

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FACULTÉ DE PHARMACIE

N° 164

QUELQUES APPLICATIONS
du
Microdosage de l'Ammoniaque

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le

1927

PAR

MAX MOUSSERON

PHARMACIEN SUPÉRIEUR

LICENCIÉ ES SCIENCES PHYSIQUES

PRÉPARATEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Pour obtenir le diplôme de Docteur de l'Université (Mention Pharmacie)

JURY

MM. ASTRUC, Professeur, *Président.*

IMBERT, Professeur.

CANALS, agrégé.

Assesseurs.

MONTPELLIER

IMPRIMERIE ROUMÉGOUS ET DEHAN, RUE VIEILLE-INTENDANCE

1927

QUELQUES APPLICATIONS
DU
MICRODOSAGE DE L'AMMONIAQUE

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FACULTÉ DE PHARMACIE

N° 164

QUELQUES APPLICATIONS
du
Microdosage de l'Ammoniaque

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Pharmacie de Montpellier

Le

1927

PAR

MAX MOUSSERON

PHARMACIEN SUPÉRIEUR

LICENCIÉ ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PRÉPARATEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

Pour obtenir le diplôme de Docteur de l'Université (Mention Pharmacie)

JURY

MM. ASTRUC, Professeur, *Président*.

IMBERT, Professeur.

CANALS, agrégé.

} *Assesseurs.*

MONTPELLIER

IMPRIMERIE ROUMÉGOUS ET DEHAN, RUE VIEILLE-INTENDANCE

1927

Faculté de Pharmacie de Montpellier

ADMINISTRATION

MM. G. MASSOL (✱, I. P. ☼).....	<i>Doyen.</i>
A. ASTRUC (✱, I. P. ☼).....	<i>Assesseur.</i>
GILLET (✱, ☼, A. ☼).....	<i>Secrétaire.</i>
IZARD (I. P. ☼).....	<i>Secrétaire honoraire.</i>

PROFESSEURS

MM. G. MASSOL (✱, I. P. ☼).....	<i>Physique appliquée.</i>
H. IMBERT (I. P. ☼).....	<i>Analyse chimique.</i>
H. FONZES-DIACON (✱, I. P. ☼, ✱).....	<i>Chimie minérale.</i>
A. ASTRUC (✱, I. P. ☼).....	<i>Pharmacie galénique et industrielle.</i>
HOLLANDE (I. P. ☼).....	<i>Zoologie et Microbiologie.</i>
P.-J. TARBOURIECH (✱, I. P. ☼).....	<i>Chimie organique.</i>
A. JUILLET (I. P. ☼).....	<i>Botanique et Matière médicale.</i>
A. FAUCON (✱, I. P. ☼, ✱, G. ✕, G. O. ✕).....	<i>Pharmacie chimique.</i>

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. F. JADIN (✱, I. P. ☼), Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
ASTRE (I. P. ☼).

CHARGÉS DE COURS

MM. H. IMBERT (I. P. ☼).....	<i>Toxicologie.</i>
A. ASTRUC (✱, I. P. ☼).....	<i>Hydrologie.</i>
P.-J. TARBOURIECH (✱, I. P. ☼).....	<i>Chimie biologique.</i>
A. JUILLET (I. P. ☼).....	<i>Botanique.</i>
A. FAUCON (✱, I. P. ☼, ✱, G. ✕, G. O. ✕).....	<i>Fonctions en chimie organique.</i>
HOLLANDE (I. P. ☼).....	<i>Zoologie.</i>
MOYE, prof. Fac. Droit (✱, I. P. ☼).....	<i>Législation pharmaceutique.</i>



AGRÉGÉS

E. CANALS, (A. ☼).

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. E. CANALS (A. ☼).....	<i>Physique.</i>
L. FARRÉ (I. P. ☼).....	<i>Chimie et Pharmacie.</i>
N.	<i>Histoire naturelle.</i>

NOTA.— La Faculté de Pharmacie n'accepte la responsabilité d'aucune des opinions émises par les candidats dans les Thèses ou Synthèses qui lui sont présentées.

A MA MÈRE

A MON PÈRE

A MA SOEUR

MEIS ET AMICIS

M. M.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ASTRUC

Correspondant national de l'Académie de Médecine

Chevalier de la Légion d'honneur

Hommage de respect et de reconnaissance.

M. M.

A M. LE PROFESSEUR IMBERT

A M. LE PROFESSEUR AGREGÉ CANAIS

A TOUS MES MAÎTRES

M. M.

AVANT-PROPOS

Avant d'entreprendre la rédaction de cette thèse, je tiens à remercier mon maître, M. le Professeur Astruc, de l'initiative qu'il m'a laissée dans ce travail ; la paternelle bonté dont il a toujours fait preuve à mon égard durant les quelques années passées dans son laboratoire, me font un devoir de lui exprimer ma vive reconnaissance.

En acceptant de faire partie de mon jury de thèse, M. le Professeur Imbert a voulu me donner une preuve nouvelle de l'intérêt qu'il n'a cessé de me témoigner durant mes études ; qu'il reçoive l'expression de ma sincère gratitude.

Ma reconnaissance va également à M. Canals, agrégé, qui m'a toujours encouragé avec bienveillance dans mes recherches.

INTRODUCTION

Depuis quelques années, à la suite des travaux de PREGL, de DUBSKY, de BANG et l'école américaine, de nombreux chercheurs ont abordé l'étude des microdosages, appelés à rendre de grands services, particulièrement en analyse élémentaire et en chimie biologique.

En France, a été créé un centre de microanalyse à l'Institut de Chimie biologique de la Faculté de Médecine de Strasbourg, dirigé par le Professeur M. NICLOUX, en vue de diffuser les méthodes et techniques microanalytiques.

Depuis lors, un grand nombre de chimistes ont suivi les conseils de ce maître, et pensent avec lui qu'« à l'économie, capitale dans certains cas, d'une substance qui peut être précieuse à plus d'un titre, s'ajoute l'économie de temps qui provient de la rapidité des opérations d'analyse » (1).

D'après NICLOUX, « la technique de PREGL (microdosage de l'azote total) est la plus séduisante de toute la microanalyse : simple, rapide, précise, n'exigeant pas nécessairement l'emploi de la microbalance, une mesure de volume pouvant y suppléer, telles sont ses caractéristiques ».

Exposons principe et technique de cette méthode très appréciée.

(1) La Microanalyse organique quantitative (Conférence). *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXXV, p. 1040.

La substance organique azotée (la teneur en azote étant comprise entre 0 mgr. 02 et 1 mgr.) est introduite dans un matras microkjeldahl en Pyrex, et traitée par 1 cc. d'acide sulfurique concentré et pur en présence d'un petit cristal de sulfate de cuivre et un autre de sulfate de potasse. Après quelques minutes d'ébullition, la transformation de l'azote organique en azote ammoniacal est totale.

Le contenu du ballon est ensuite placé dans l'appareil ingénieux de PARNAS et WAGNER (1) en vue de la distillation de l'ammoniaque.

Ce dernier est constitué essentiellement par un petit ballon à long col en Pyrex, dans lequel peut circuler un courant de vapeur d'eau, et qui est en relation avec un réfrigérant en verre de même nature.

La solution de sulfate d'ammonium est placée dans le ballon, on y ajoute un alcali et on le chauffe pendant le passage de la vapeur d'eau : l'ammoniaque est entraîné, condensé et retenu dans une solution titrée de $\text{SO}_4 \text{H}_2 \frac{\text{N}}{70}$ ou $\frac{\text{N}}{100}$; en quelques minutes l'opération est terminée. On titre par retour à l'aide de $\text{NaOH} \cdot \frac{\text{N}}{70}$ ou $\frac{\text{N}}{100}$.

Un procédé spécial de vidange permet d'effectuer des dosages en série.

L'indicateur préconisé est le rouge de méthyle, virant au jaune serin en présence d'alcali. Les solutions acide et alcaline $\frac{\text{N}}{100}$ sont préparées de telle sorte qu'elles contiennent

(1) *Biochem. Zeitsch*, t. CXXV, p 253.

l'une et l'autre 50 cc. par litre de solution colorante (1); dans ces conditions, le virage est d'une netteté remarquable (2).

La solution alcaline titrée est versée à l'aide de la microburette de LABBÉ et NEPVEU (3), de 2 cc. de contenance et divisée en $\frac{1}{100}$ ^e de cc. ; la solution acide est mesurée à l'aide de pipettes vérifiées.

La plus petite quantité d'azote appréciable par ce dosage est de 0 mgr. 002.

Examinons le calcul.

L'équation :



montre que :

1000 cc. $\text{SO}^4 \text{H}^2 \text{N}$ correspond à 14 gr. Az

d'où $1 \text{ cc. } \text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100} \rightarrow 0 \text{ mgr. } 14 \text{ Az}$

Tels sont principe, technique et calcul, qui rendent une telle méthode si précieuse.

Dans un mémoire récent (4) nous avons utilisé un appareil semblable à celui de PARNAS et WAGNER en vue du microdosage de l'allylsénévol. D'autres microdosages, *tous basés sur celui de l'ammoniaque*, pouvaient être conçus et appliqués aux recherches entreprises dans le laboratoire de notre maître, le Professeur ASTRUC.

(1) 0 gr. 05 rouge de méthyle + 300 cc. alcool 95° ; compléter à 500 cc. avec de l'eau distillée.

(2) Il est indiqué de porter à l'ébullition avant le dosage.

(3) Chez Pyrex, Paris.

(4) Th. Pharm. Sup. 1927.

Les essais sur le rôle physiologique du magnésium chez les végétaux, poursuivis depuis de nombreuses années par CANALS, agrégé, et ses collaborateurs, nous ont suggéré l'étude d'un microdosage de ce métal, peu de méthodes générales et rigoureusement précises existant en vue de cette détermination.

En outre, pour les phosphates, les glycérophosphates, des microdosages ont pu être établis et ils ont permis d'énoncer la loi d'action du ferment glycérophosphatase.

De même le dosage du bisulfate de potasse prenant naissance dans la réaction myronate-myrosine, nous a conduit à exprimer physicochimiquement la décomposition fermentaire de la sinigrine, et à comparer les résultats à ceux déjà obtenus par microdosage de l'allylsénévol.

Des études de Chimie végétale déjà entreprises à propos de l'examen des cendres de *Brassica nigra* et *Sinapis alba* nous ont amené à exposer un autre microdosage, celui du potassium.

Enfin certains composés pharmaceutiques azotés, tels que urotropine, antipyrine, ont été dosés microchimiquement par la méthode de PREGL, montrant ainsi l'intérêt que peuvent prendre les microdosages en Pharmacie.

Nous nous proposons d'étudier successivement : le microdosage du magnésium, soit isolé, soit en présence de calcium, et quelques-unes de ses applications ;

l'hydrolyse du phosphate ammoniaco-magnésien ;

le microdosage de l'acide phosphorique soit par $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, soit par le phospho-molybdate d'ammonium ;

le microdosage de l'acide glycérophosphorique et son application à la loi d'action de la glycérophosphatase, et à l'influence de la viscosité sur l'action de ce ferment ;

le microdosage d'un acide libre dans quelques milieux végétaux complexes, et son application à la réaction myronate-myrosine ;

le microdosage du potassium ;

enfin le dosage de l'antipyrine et de l'urotropine par la méthode de PREGL.

CHAPITRE I

Microdosage du Magnésium

Il existe peu de méthodes susceptibles de doser microchimiquement le magnésium ; nous rappellerons quelques-unes de celles qui ont été préconisées.

CANALS (1) a indiqué un dosage volumétrique du phosphore combiné dans la molécule de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, à l'aide d'une liqueur titrée d'urane, en présence soit de cochenille, soit de ferrocyanure.

Ce même auteur a étudié en outre un microdosage du magnésium en déterminant par le réactif de NESSLER, la proportion d'azote ammoniacal du $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$.

BRIGGS (2) a examiné une méthode colorimétrique permettant de doser le magnésium dans les filtrats trichloracétiques de plasma sanguin citraté, en calculant le phosphore contenu dans $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ d'après le procédé de BELL et DOISY basé sur la réduction sélective de l'acide phosphomolybdique par l'hydroquinone, en présence d'un excès de molybdate d'ammoniaque.

(1) Th. Sciences. Paris, 1920.

(2) Bull. Soc. chim. (4) t. XXXII, p. 1832.

DENIGÈS (1), reprenant la réaction de SCHLAGDENHAUFEN (2), a proposé un dosage du magnésium dans les eaux marines à partir d'une seule goutte d'eau de mer, basé sur la coloration — hypoiodite de magnésium pour les uns, laque de magnésie colorée pour les autres — que prennent les sels de magnésium en présence d'hypobromite additionné d'iodure de potassium.

Cette méthode a permis à MEILLÈRE (3) de caractériser certaines eaux minérales par évaluation de leur teneur en magnésium. HIRTH (4) a déterminé le taux de phosphore combiné dans $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, en traitant la solution chlorhydrique de ce dernier par le nitromolybdate d'ammonium, précipitant la solution ammoniacale de phosphomolybdate par le chlorure de baryum d'après POSTERNAK (5) et pesant le phosphomolybdate de baryum après calcination.

CANALS et Mlle GOMBERT (6) ont précisé la technique de dosage de faibles quantités de magnésium par formation de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ recueilli par centrifugation : celui-ci, dissous dans HCl , le dosage est terminé par titrage à l'aide d'une liqueur d'urane. Leur technique, ainsi qu'ils l'indiquent, n'est rigoureuse qu'à partir de 1 mgr. de magnésium.

§ I. — Méthode proposée

Parmi toutes ces méthodes, celles de BRIGGS, de DENIGÈS, basées sur des principes colorimétriques, sont trop variables

(1) *Bull. Pharm. Bordeaux*, 1923, p. 68.

(2) *Journ. Pharm. et Chim.* (4), t. XXVII, p. 378.

(3) *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. XXVII, p. 339 ; t. XXVIII, p. 90.

(4) *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXXIII, p. 432.

(5) *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXVII, p. 507-564.

(6) Ces recherches seront exposées par l'un des auteurs dans une thèse de Doctorat en Pharmacie.

suivant l'observateur ; la technique de HIRTH quoique précise est assez longue à réaliser ; enfin le procédé de CANALS ne permet pas d'apprécier avec toute l'exactitude voulue de faibles quantités de magnésium. « Les résultats, dit-il lui-même, ne sont qu'approximatifs ».

Nous nous sommes donc proposé de déterminer la quantité d'azote ammoniacal combiné dans la molécule de $\text{PO}^4 \text{MgNH}^4$ et avons établi une méthode basée sur les données qui suivent :

Précipitation du magnésium à l'état de $\text{PO}^4 \text{MgNH}^4$.

Élimination des sels ammoniacaux et de l'ammoniaque libre.

Dosage de l'ammoniaque de $\text{PO}^4 \text{MgNH}^4$ par l'appareil de PARNAS et WAGNER.

Examinons tout d'abord la correspondance existant dans $\text{PO}^4 \text{MgNH}^4$ entre le magnésium et l'azote ammoniacal.

La formule du phosphate ammoniaco-magnésien montre qu'à une molécule-gramme de Az correspond une molécule-gramme de Mg. Or :

$$1000 \text{ cc. SO}^4 \text{H}^2 \text{N} \rightarrow 14 \text{ gr. Az} \rightarrow 24 \text{ gr. 3 Mg}$$

$$\text{et } 1 \text{ cc. SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100} \rightarrow 0 \text{ mgr. 243 Mg}$$

Si donc, on place 5 cc. $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$ dans le bécher recevant le distillat ammoniacal, la quantité en milligrammes de magnésium contenue dans la prise d'essai, sera donnée par la relation :

$$(5 - n) 0,243$$

n étant le nombre de cc. de $\text{NaOH} \frac{\text{N}}{100}$ versés à la microburette.

Notons qu'il est inutile d'avoir une solution de soude de titre exactement égal à $\frac{N}{100}$, il suffit en effet de posséder une liqueur alcaline de concentration voisine et d'établir la correspondance par rapport à $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{N}{100}$. C'est ainsi que le volume de soude nécessaire à la neutralisation de 5 cc. $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{N}{100}$ étant de m cc., le coefficient par lequel il faudra multiplier le volume de liqueur alcaline utilisée dans la suite des dosages, sera égal à $\frac{5}{m}$.

Envisageons maintenant la précipitation du magnésium à l'état de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$.

Dans un tube à centrifugeuse cylindro-conique de 15 cc., on introduit dans l'ordre indiqué :

1 cc. (ou volume voisin) solution magnésienne (1)

1 cc. $\text{NH}^4 \text{Cl} \frac{1}{10}$.

1 cc. NH^3

1 cc. $\text{PO}^4 \text{Na}^2 \text{H} \frac{1}{20}$ ° (2)

Q S p. 10 cc. Eau

Après agitation à l'aide d'une baguette de verre on abandonne une demi-heure : le précipité se rassemble en peu de temps dans la partie inférieure du tube.

(1) Les quantités de Mg dosées sont comprises entre 0 mgr. 1 et 1 mgr. ; dans le cas de faibles proportions de métal le volume total sera ramené à 5 cc.

(2) Il est préférable d'employer le phosphate d'ammoniaque $\text{PO}^4 (\text{NH}^4)^2 \text{H}$, ce dernier réagissant sur les sels primaire et tertiaire de magnésium pour former $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$.

Notons avec CANALS (1) que « dans les limites indiquées, un excès de corps précipitant ne donne aucune influence sur le résultat final ».

Comment éliminer l'ammoniaque et le chlorure d'ammonium ? Le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, peu soluble dans l'eau [0,006 %] l'est encore moins dans l'eau ammoniacale au quart, 0,0003 % suivant KISSEL (2), aussi utilise-t-on pratiquement le lavage du précipité à l'aide de cette solution.

Nous avons donc traité le culot de centrifugation par l'eau ammoniacale pour éliminer le chlorure d'ammonium, ce qu'il était facile de constater par l'azotate d'argent en milieu nitrique.

Le sel ammoniacal éliminé, il fallait entraîner l'ammoniaque libre ; en vue de cette étude nous avons réalisé les trois essais qui suivent :

I) L'ensemble $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ — eau ammoniacale est porté à l'ébullition ou traité par un courant de vapeur d'eau dans l'appareil PARNAS et WAGNER ; dans ces conditions, l'ammoniaque libre étant chassé, il devient possible de déterminer la proportion d'azote ammoniacal de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$. Or ce procédé est inapplicable, car si l'on soumet à l'ébullition une émulsion aqueuse diluée de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, ce sel se décompose en libérant de l'ammoniaque.

Nous traiterons avec détail de l'hydrolyse de ce corps dans l'appendice qui suit.

II) Nous avons pensé à éliminer l'ammoniaque libre par courant d'air, mais l'entraînement étant extrêmement long, ce procédé n'a pu être appliqué.

(1) Th. Sciences. Paris, 1920, p. 58.

(2) *Zeitscher f. analyt. Chem.*, t. VII, p. 173.

III) Le vide réalisé au-dessus de la solution ammoniacale n'a pas fourni de meilleurs résultats que le traitement par courant d'air, même en s'aidant d'une faible élévation de température suivant une technique rappelant celle de YOVANOVITCH (1).

Les difficultés auxquelles on se heurte lors de l'entraînement de l'ammoniaque libre sont donc nombreuses ; il nous a même été impossible de chasser ce corps par un procédé physique sans libérer l'azote ammoniacal de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$. Délaisant le lavage du précipité par l'eau ammoniacale, nous avons pensé à utiliser l'alcool fort pour éliminer l'ammoniaque et le chlorure d'ammonium.

Dans ce but, le composé est rassemblé par centrifugation après une demi-heure de précipitation, et la solution surnageante décantée. Le culot est émulsionné dans 5 cc. d'alcool à 95°, puis centrifugé dix minutes après et le lavage répété à nouveau deux fois.

Dans ces conditions, le réactif de NESSLER n'a pas fourni de coloration avec la solution provenant du dernier lavage à l'alcool (2).

Il a été montré en outre que le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ était pratiquement insoluble dans l'alcool fort, en utilisant un produit exempt de phosphate alcalin.

Le phosphate de soude nécessaire à la précipitation peut

(1) *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. VII, p. 665.

(2) L'alcool ne gêne pas la réaction de NESSLER à condition d'examiner aussitôt la coloration ; cependant avec des traces d'ammoniaque il est préférable d'utiliser un réactif plus fortement alcalinisé.

en effet être partiellement adsorbé par $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ (1) ; nous l'avons du reste démontré ainsi :

Le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ précipité avec grand excès de phosphate de soude, est lavé à l'eau distillée, calciné au rouge sombre puis repris par l'eau chaude ; le filtrat traité par le réactif nitromolybdique a donné un précipité jaune décelant ainsi la présence de phosphate.

Un essai identique a été réalisé à partir de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ obtenu sans excès de phosphate de soude : un simple louche a montré la présence de traces de phosphate (2).

Le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ précipité sans excès de phosphate alcalin est donc exempt de ce dernier ; ce composé préparé ainsi a servi à l'étude de sa solubilité dans l'alcool.

Pour cela, le produit a été maintenu en suspension durant deux heures dans 100 gr. d'alcool à 95° et le filtrat évaporé au bain-marie dans une capsule en platine ; $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ ayant pu se décomposer, nous avons recherché l'acide phosphorique par la liqueur nitromolybdique ; il ne s'est produit qu'un très faible précipité jaune qui, traité comme nous l'indiquerons plus loin (3) n'a montré qu'une proportion de 0 mgr. 06 $\text{P}^2 \text{O}^5$ correspondant à 0 mgr. 02 Mg.

La solubilité de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, 7 aq dans l'alcool à 95° n'est donc que 0,0002 %/, quantité très faible et négligeable

(1) GOOCH et AUSTIN (*Zeit. f. anorg. Chem.*, t. II, p. 50.) obtiennent constamment des résultats trop élevés pour le dosage du Mg par pesée de pyrophosphate ; mais cependant la double précipitation diminue fortement cette erreur ; aussi TRAVERS et Mlle PERRON (*Ann. Chim.* (10), t. II, p. 47) pensent que le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ retient par adsorption du phosphate alcalin nécessaire à la précipitation de ce composé.

(2) Le pyrophosphate de magnésie calciné est très peu soluble dans l'eau et a suffi à provoquer la précipitation de traces de phosphomolybdate d'ammonium.

(3) Voir page 39.

dans nos dosages, le volume d'alcool utilisé en lavage ne dépassant jamais 20 cc.

En appliquant cette méthode de purification de $\text{PO}_4 \text{ Mg NH}_4$ suivie de la dissolution du précipité dans 5 gouttes d'acide sulfurique au quart et dosage de l'ammoniaque d'après le procédé décrit (1), nous avons obtenu les résultats ci-après :

Mg mis en œuvre (2) (en mgr.)	$\text{SO}_4 \text{ H}_2 \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	$\text{Na OH} \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	Mg trouvé (en mgr.)
1	7	1,80	1,26
0,50	5	2,48	0,61
0,25	2	0,72	0,31

Les résultats sont donc entachés d'une erreur par excès de 25 % environ.

Aussi avons-nous augmenté et porté le temps de précipitation à 12 heures, mais les chiffres obtenus indiquent une erreur par excès plus importante (1 mgr. 40 au lieu de 1 mgr. Mg).

Ces résultats toujours trop élevés, ne seraient-ils pas dus à l'adsorption.

Ce phénomène est général, c'est ainsi que les silicates d'alumine naturels tels que le kaolin, l'argile, de même le charbon, présentent un pouvoir d'entraînement très prononcé vis-à-vis de certaines substances.

De plus, CANALS (3), à la suite des recherches de QUARTAROLI a indiqué que les hydrates de fer et d'aluminium entraî-

(1) Voir page 12.

(2) La solution de sulfate de magnésium utilisée a été dosée par la méthode classique au pyrophosphate de magnésie.

(3) Bull. Soc. Chim. (4), t. XXIX, p. 573.

naient les sels de magnésium et de calcium, et qu'il était possible de détruire cette action par agitation et lavage du précipité à l'eau bouillante additionnée d'acide acétique au moment de l'emploi.

Ce sont là des phénomènes d'absorption par emprisonnement mécanique ou par occlusion ; dans tous les cas, ils sont *réversibles*, le lavage à l'eau ou par un autre solvant permettant de récupérer, en grande partie tout au moins, le corps adsorbé, à condition que ce dernier ne soit pas à l'état colloïdal.

Le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ a donc pu adsorber de l'ammoniaque, de là les erreurs par excès.

Comment effectuer la réversibilité ?

Il nous a semblé qu'une élévation de température serait susceptible de s'opposer ou d'annihiler l'adsorption ; aussi avons-nous réalisé les essais qui suivent :

1) La précipitation de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ est effectuée au bain-marie vers $50-60^\circ$ (1) durant une demi-heure, puis le précipité nettement cristallin lavé quatre fois à l'alcool fort à la même température par centrifugation et décantation. Les résultats suivants ont été obtenus :

Mg mis en œuvre (en mgr.)	$\text{SO}^4 \text{H}^3 \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	$\text{Na OH} \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	Mg trouvé (en mgr.)
0,90	5	1,20	0,92
0,60	5	2,55	0,59

(1) NEUBAUER et GOOCH (Analyse quantitative par TREADWELL, 1920, p. 68 et 399) indiquent à propos du macrodosage du magnésium que le phosphate ammoniaco magnésien précipité à froid peut être souillé de $(\text{PO}^4)^3 \text{Mg} (\text{NH}^4)^4$ et $(\text{PO}^4)^2 \text{Mg}^3$, tandis qu'en opérant à chaud seul le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ prend naissance.

Ces chiffres représentent donc, avec une très faible erreur, les quantités de magnésium mises en expérience. L'adsorption est donc annulée par élévation de température (1) et c'est là un résultat intéressant ; cependant il reste à déterminer s'il est nécessaire d'augmenter la température non seulement lors de la précipitation, mais aussi durant le lavage.

II) En précipitant $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ vers 50-60° et effectuant le lavage à froid, on a obtenu les résultats ci-après :

Mg mis en œuvre (en mgr.)	$\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	$\text{Na OH} \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	Mg trouvé (en mgr.)
0,90	5	0,55	1,08
0,60	5	2,05	0,72

Les proportions trouvées sont nettement supérieures aux quantités théoriques ; le chauffage durant la précipitation n'a donc pas suffi pour annihiler l'adsorption, cependant la centrifugation et le lavage du précipité sont plus rapides.

III). La précipitation est effectuée à froid, mais le lavage à l'alcool réalisé vers 50-60° ; les résultats suivants ont été acquis :

Mg mis en œuvre (en mgr.)	$\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	$\text{Na OH} \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	Mg trouvé (en mgr.)
0,90	5	1,35	0,88
0,50	5	3,00	0,48.5
0,20	2	1,20	0,19.5

(1) Nous avons vérifié que l'alcool à 95° chauffé vers 50-60° ne dissolvait qu'une proportion négligeable de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, 7 aq : 0,0003 %/. De plus une température de 60° n'est pas suffisante pour décomposer $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ en émulsion alcoolique.

Le lavage à l'alcool opéré vers 60° permet donc de détruire l'adsorption ; les résultats sont suffisamment précis, l'erreur ne dépassant pas 3 o/o.

Nous ne pouvons pas exposer toutes les expériences qui nous ont amené à établir ce microdosage, mais indiquons cependant que les nombreux essais effectués comparativement aux macrodosages nous ont conduit à adopter la technique suivante :

Dans un tube à centrifugeuse, introduire dans l'ordre indiqué :

1 cc. (ou volume voisin) solution magnésienne

1 cc. $\text{NH}^4 \text{Cl}$ $\frac{1}{10}^{\circ}$

1 cc. NH^3

1 cc. $\text{PO}^4 \text{Na}^3 \text{H}$ ou $\text{PO}^4 (\text{NH}^4)^3 \text{H}$ $\frac{1}{20}^{\circ}$

Q S pour 10 cc. Eau

Agiter sans frotter les parois et abandonner une demi-heure au bain-marie porté vers 50-60°.

Centrifuger, décanter en totalité la solution surnageante, émulsionner le culot avec 4 à 5 cc. d'alcool à 95° et porter dix minutes au bain-marie réglé vers 60° ; centrifuger, décanter et renouveler deux fois cette série d'opérations après traitement par l'alcool chaud (1).

Le culot de centrifugation est ensuite dissous dans V gouttes d'acide sulfurique au quart exempt d'ammoniaque, la solution introduite dans le ballon de l'appareil PARNAS et

(1) La liqueur provenant du dernier lavage à l'alcool ne doit présenter qu'une très faible coloration jaune après addition de réactif de NESSLER fortement alcalinisé.

WAGNER et le tube à centrifugeuse lavé ; après addition de 3 cc. de soude à 10 o/o, l'ammoniaque est entraîné par le courant de vapeur d'eau et le distillat reçu dans $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$; le microdosage est terminé d'après la technique et le calcul indiqués.

§ II. — Microdosage du magnésium en présence de calcium

Le calcium est fort voisin du magnésium, aussi sera-t-on souvent amené à doser simultanément ces deux métaux.

Nous nous sommes donc proposé de déterminer les proportions de magnésium en présence de calcium.

On pouvait penser doser le magnésium, le calcium étant présent, d'après une technique semblable à la précédente.

En effet, à côté du magnésium précipité à l'état de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, le calcium fournit du phosphate de chaux qui ne doit pas gêner le dosage de l'ammoniaque.

Pour vérifier ce point, la solution magnésienne a été additionnée de phosphate monocalcique et le microdosage de l'ammoniaque effectué après précipitation de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$; nous avons obtenu les résultats suivants :

Mg mis en œuvre (en mgr.)	$\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	$\text{Na OH} \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	Mg trouvé (en mgr.)
1 + 10 $(\text{PO}^4)^2 \text{Ca H}^4$	10	1,50	2,06
0,50 + Idem	5	0,70	1,04

Ces chiffres sont nettement entachés d'erreur, l'adsorption d'ammoniaque par le phosphate de chaux gélatineux en est peut-être la cause,

Il a été montré du reste que le phosphate de chaux était susceptible d'adsorber l'ammoniaque en réalisant l'expérience qui suit.

Un mélange de phosphate monocalcique et de chlorure d'ammonium est traité par l'ammoniaque et abandonné une demi-heure ; le précipité lavé à l'alcool fort par centrifugation et décantation jusqu'à réaction négative de l'alcool de lavage au NESSLER, a été dissous dans l'acide sulfurique dilué et traité par la soude et le NESSLER : un précipité orangé a décelé la présence d'ammoniaque.

Le résultat a été identique avec lavage à l'alcool fort chauffé à 60°, l'adsorption par le précipité gélatineux devant être très accentuée.

Le microdosage du magnésium en présence de calcium effectué sans précautions spéciales, devient donc inapplicable.

Nous nous sommes donc adressé à la méthode de JOULIE en précipitant à chaud $\text{PO}_4 \text{Mg NH}_4$ en présence de quelques gouttes de citrate d'ammonium (1) dans lequel ce composé est pratiquement insoluble ; voici les résultats acquis :

Mg mis en œuvre (en mgr.)	$\text{SO}_4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	$\text{Na OH} \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	Mg trouvé (en mgr.)
1 + 10 $(\text{PO}_4)^2 \text{Ca H}^4$	5	0,80	1,02
0,50 + Idem	5	2,85	0,52

Ces valeurs représentent donc avec une très faible erreur les proportions de magnésium mises en expérience ; cepen-

(1) Le réactif est préparé ainsi :

Acide citrique... 40 gr.

Ammoniaque... 100 gr.

Le citrate d'ammonium empêche la précipitation par les alcalis de l'hydrate ferrique, l'alumine, le phosphate, l'oxalate de chaux...

dant le citrate d'ammonium ne doit pas être en trop grand excès, la précipitation s'effectuant moins rapidement et les lavages devenant plus difficiles.

Aussi cette méthode n'est-elle plus applicable lorsque la proportion de calcium est environ trois fois supérieure à celle de magnésium ; c'est le cas de la plupart des cendres végétales.

Dans ces conditions, il est indispensable d'éliminer le calcium par l'oxalate d'ammonium en milieu acétique d'après une technique précisée par CANALS (1) ; cet auteur poursuivant les travaux d'ASTRUC (2) en vue de l'essai de la magnésie calcinée a montré que pour une forte dilution de la solution magnésienne, le magnésium n'était pas précipité avec le calcium par l'oxalate d'ammonium ; et de plus, quelle que soit la proportion de magnésium en présence de calcium, le lavage à l'eau bouillante du précipité d'oxalate permet la séparation parfaite des deux métaux.

Il sera ainsi possible d'établir le facteur de chaux de LOEW $\frac{\text{Ca}}{\text{Mg}}$ pour les cendres végétales, en dosant manganométriquement le calcium après dissolution de l'oxalate de chaux dans l'acide sulfurique dilué.

§ III. — Applications

Nous avons entrepris le microdosage du magnésium dans la sucrase, ce métal y étant toujours présent (3) ; pour cela

(1) Th. Sciences. Paris, 1920, p. 71. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. XVI, p. 65-110.

(2) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XXI, p. 134.

(3) CANALS a montré à diverses reprises l'influence de ce métal dans l'action fermentaire de l'invertine.

50 mgr. de poudre fermentaire ont été calcinés au rouge sombre avec une faible quantité d'azotate d'ammonium, la silice éliminée et le magnésium précipité dans le filtrat en présence de III gouttes de citrate d'ammonium ; les résultats ont été semblables à ceux obtenus par macrodosage toujours long et minutieux :

Sucrase Byla.. . . .	9 mgr. 4 Mg par gr.
Sucrase X...	4 , 1 —

Certaines cendres végétales étudiées en ce moment par CANALS et Mlle DAUCAN (1) en vue de la détermination du facteur de LOEW, ont été examinées. Après élimination du fer et de l'aluminium par l'ammoniaque, du calcium par l'oxalate d'ammonium en milieu acétique, le magnésium a été précipité à l'état de $\text{PO}_4\text{Mg NH}_4$; voici quelques chiffres exprimés en Mg o/o de cendres :

Sedum album (tiges feuillées)	3,17
Rhamnus alaternus (feuilles)	2,85
Moutarde noire Bombay (graines) ..	6,73
Moutarde blanche (graines).....	6,10

Nous avons dosé le magnésium dans quelques eaux minérales et obtenu les résultats ci-après :

Vichy (Grande Grille) ..	0 gr. 012 Mg o/oo (2)
Vichy (Hôpital)	0 gr. 014 —
Châtel-Guyon.	0 gr. 38 —

(1) L'ensemble de ces recherches feront l'objet d'une thèse de doctorat en Pharmacie.

(2) Les proportions de Mg étant très faibles, un volume donné (25 cc.) d'eau minérale a été concentré au bain-marie en présence d'acide chlorhydrique.

Enfin il a été déterminé la teneur en magnésium de l'eau de mer.

Méditerranée (baie de Cavalaire) . . 1 gr. 76 Mg 0/00

L'ensemble de ces chiffres montre que le microdosage proposé est général, rapide, facile à exécuter et fournit des résultats toujours précis.

APPENDICE

Sur l'hydrolyse du phosphate ammoniaco-magnésien

Il a été indiqué précédemment (1) qu'une émulsion aqueuse de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ libérait de l'ammoniaque par ébullition (2) ; nous avons pu nous en rendre compte par l'essai suivant : Une suspension à 0 gr. 020 o/o dans l'eau de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ lavé à l'alcool à 95° vers 60° pour éliminer l'ammoniaque absorbé (le filtrat ne réagissant plus au NESSLER), est soumise à un courant de vapeur d'eau dans le ballon de l'appareil PARNAS et WAGNER.

Le réactif de NESSLER, versé dans le distillat, a décelé très nettement la présence d'ammoniaque ; de plus ce dernier chassé, le résidu contenu dans le ballon est dissous dans l'acide chlorhydrique et traité par le NESSLER : la réaction est négative.

Il était donc possible de conclure que l'ébullition décomposait *totale*ment (3) le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ en donnant :

(1) Voir page 20.

(2) GRIESSMAYER (*Zeit. Analyt. Chem.*, t. XI, p. 45) avait entrevu cette décomposition.

(3) TRAVERS et M^{lle} PERRON (*Ann. Chim.* (10), t. I, p. 173) ont montré qu'une suspension dans l'eau de 0 gr. 490 de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ traitée par un courant de vapeur d'eau *ne libérait pas totale*ment l'ammoniaque, $\text{PO}^4 \text{NH}^4 \text{H}^2$ prenant naissance. Cependant pour nos essais portant sur de très faibles quantités de ce composé (0 gr. 020), il nous a été possible de déplacer *complètement* l'ammoniaque, prouvant ainsi que la réaction secondaire donnant naissance au phosphate d'ammonium, ne se produit pas pour les émulsions très diluées.



Par ébullition prolongée le phosphate bimagnésien se décompose en phosphate basique.

Dans ces conditions, il n'est plus permis de penser que la donnée classique : le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ est soluble à raison de 0,006 o/o dans l'eau froide, et *insoluble dans l'eau bouillante*, est exacte.

Le composé, traité par l'eau bouillante se décompose, en effet, en fournissant de l'ammoniaque volatil et du phosphate de magnésie insoluble ; aussi après filtration, la solution ne représente plus en réalité que de l'eau pure ; du reste l'expérience suivante le prouve.

Une solution saturée à froid de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ pur a été placée dans un ballon muni d'un tube effilé plongeant dans $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{10}$ et portée à l'ébullition : un dégagement très net d'ammoniaque a été constaté ; de plus un trouble s'est produit dans le ballon, et son contenu ne renfermait plus d'ammoniaque après une heure d'ébullition.

Il est donc démontré que $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ *est non pas insoluble dans l'eau à 100°, mais décomposé.*

Déterminons maintenant la température minimum nécessaire à cette décomposition.

Pour cette étude, des bandes rectangulaires de toile (1), imprégnées de NESSLER, sont placées dans l'atmosphère de tubes à essais portés au bain-marie à températures différentes, et contenant les émulsions de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$.

(1) Le réactif NESSLER contenant une quantité importante de soude, le papier ne peut être utilisé.

Nous avons observé qu'une température de 65° était suffisante pour constater une coloration très nette de la toile NESSLER. La réaction est d'ailleurs presque instantanée à 80°.

Il était ensuite intéressant d'examiner l'influence d'un courant d'air sur une émulsion aqueuse de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$.

Dans ce but, une émulsion très diluée (0,020 o/o) a été placée dans un ballon où circulait un courant d'air barbotant au préalable dans un laveur à acide sulfurique. L'air traversait enfin un flacon contenant $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{10}$ destiné à retenir l'ammoniaque provenant de la décomposition, ce dernier étant relié à la trompe à eau.

Après une heure de passage de l'air, il s'est produit un dégagement d'ammoniaque ; de plus en prolongeant celui-ci durant six heures, le contenu du ballon ne présentait plus de réaction au NESSLER : *le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ est donc totalement décomposé par passage de l'air à travers une émulsion très diluée de ce sel.*

Les résultats ont été identiques avec une solution saturée, mais la décomposition s'effectue plus rapidement.

Un essai semblable a été réalisé avec une émulsion de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ dans l'alcool à 95°.

Dans ces conditions, même en prolongeant le courant d'air durant cinq heures, il n'a été possible de déceler que des traces d'ammoniaque : *le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ n'est donc pas décomposé par un courant d'air s'il se trouve en émulsion dans l'alcool* ; de plus celui-ci étant éliminé par centrifugation et remplacé par de l'eau, le courant d'air a été susceptible de provoquer l'hydrolyse.

Indiquons cependant qu'une émulsion alcoolique de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ portée à l'ébullition se décompose en libérant de l'ammoniaque ; mais à 80° ce phénomène n'a pas lieu.

Examinons, enfin, si la pulvérisation parvient à décomposer une solution aqueuse saturée de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$. Le pulvérisateur (brevet BENKER) appartient au type utilisé dans la fabrication de l'acide sulfurique par le procédé des chambre de plomb ; il est entièrement en platine et se compose essentiellement d'un ajutage placé normalement à un petit disque, permettant d'obtenir une pulvérisation parfaite dans le plan horizontal.

Le pulvérisateur est placé dans un flacon en relation avec un laveur à acide sulfurique ; la solution de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ pénètre sous faible pression (1) dans l'appareil, celle-ci étant obtenue à l'aide d'une pompe comprimant de l'air au-dessus du liquide. L'air déplacé entraîne l'ammoniaque résultant de la décomposition et barbotte dans l'acide sulfurique dilué.

Après trois heures de pulvérisation, il nous a été possible de déceler très nettement la présence d'ammoniaque dans le laveur : *le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ en solution aqueuse est donc décomposé par pulvérisation.*

Nous n'avons pu obtenir qu'une hydrolyse partielle, celle-ci devant être totale pour une pression plus élevée et une plus longue durée de l'expérience.

L'ensemble de ces essais prouve que *le phosphate ammoniaco-magnésien est peu stable* : l'ébullition, le courant d'air et même la pulvérisation étant capable de le décomposer en ammoniaque et phosphate de magnésium.

On peut donc conclure à une hydrolyse de ce sel ammoniacal suivant la relation :



(1) Sous cette pression, le débit est d'environ 5 litres à l'heure.

Cette réaction est reversible ; GIBBS (1) a proposé depuis longtemps un dosage du magnésium basé sur cette reversibilité ; dans ce but le phosphate de magnésium est traité par un excès d'ammoniaque durant quinze minutes vers 80°. le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ ainsi formé est ensuite transformé en pyrophosphate de magnésium.

De même LESUEUR (2) a préparé $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ en maintenant $\text{PO}^4 \text{Mg H}$ soit avec de l'ammoniaque, soit avec du carbonate ou du sulfhydrate d'ammonium.

Mais cette hydrolyse peut-elle se produire en l'absence d'un excès d'ammoniaque.

Pour examiner ce point, une émulsion diluée de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ est introduite dans un tube scellé et portée durant deux heures à 100°. Le composé insoluble, lavé à l'alcool fort chauffé vers 60° (la liqueur de lavage ne réagissant plus au NESSLER) a été dissous dans l'acide sulfurique, puis il a été procédé au microdosage de l'ammoniaque, du magnésium et de l'acide phosphorique ; ces recherches ont prouvé que la substance analysée ne possédait pas la composition de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, la proportion d'azote ammoniacal étant nettement inférieure au chiffre théorique.

De plus, la liqueur surnageant le composé insoluble a montré, à l'analyse, la présence de fortes proportions d'ammoniaque, de faibles quantités de phosphore et des traces de magnésium ; cette solution a fourni après longue ébullition une réaction faiblement positive au NESSLER, prouvant ainsi qu'elle contenait de l'ammoniaque libre et des traces d'ammoniaque combinée à l'état de phosphate d'ammoniaque.

Il est donc démontré que l'équation représentant l'hydrolyse de $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ n'est reversible qu'en présence d'un excès d'ammoniaque.

(1) *Amer. Journ. of Science*, t. V, p. 144.

(2) *C. R. Ac. Sc.*, t. LIX, p. 191.

CHAPITRE II

Microdosage de l'acide phosphorique

Il existe de nombreuses formes de dosage de l'acide phosphorique par pesée ; parmi elles la méthode de précipitation du $\text{PO}_4\text{Mg.NH}_4$ et transformation en pyrophosphate de magnésie est la plus fréquemment appliquée ; d'autre part, dans certains cas, il est indiqué de précipiter au préalable P_2O_5 à l'état de phosphate ammoniaco-molybdique.

Nous envisagerons le microdosage du phosphore par l'un et l'autre de ces procédés, en déterminant l'azote ammoniacal combiné dans ces deux corps.

§ I. — Par précipitation de phosphate ammoniaco-magnésien

La méthode est identique à celle proposée pour le microdosage du magnésium ; il suffit, en effet, de remplacer le phosphate de soude par le chlorure de magnésium (1).

(1) Il est préférable de ne pas remplacer MgCl_2 par SO_4Mg , le précipité de $\text{PO}_4\text{Mg.NH}_4$ pouvant dans ce cas être souillé de sulfate basique de magnésie.

Le dosage sera effectué comme il a été indiqué page 26, avec lavage de PO^4MgNH^4 à l'alcool fort chauffé vers 60° et détermination de la quantité d'azote ammoniacal par l'appareil PARNAS et WAGNER.

Le rapport entre Az et P^2O^5 dans la molécule de PO^4MgNH^4 montre que :

$$1 \text{ Az correspond à } \frac{1}{2} \text{ P}^2\text{O}^5$$

d'où : $1000 \text{ cc. SO}^4\text{H}^2\text{N} \rightarrow 14 \text{ gr. Az} \rightarrow 71 \text{ gr. P}^2\text{O}^5$.

$$\text{et } 1 \text{ cc. SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{100} \rightarrow 0 \text{ mgr. } 71 \text{ P}^2\text{O}^5$$

Si donc on utilise $2 \text{ cc. SO}^4\text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$, la proportion en mgr. de P^2O^5 contenue dans la prise d'essai est donnée par la relation :

$$(2 - n) \cdot 0,71$$

n étant le nombre de cc. de $\text{NaOH} \frac{\text{N}}{100}$ versés à la microburette. Quant au dosage du phosphate monocalcique, il est indispensable d'effectuer la précipitation de PO^4MgNH^4 en présence de citrate d'ammoniaque, en utilisant la quantité minimum de ce réactif.

Ce dosage nous a fourni des résultats satisfaisants, comme le prouve les chiffres ci-après :

P^2O^5 mis en œuvre (en mgr.)	P^2O^5 trouvé (en mgr.)
0,50	0,48
1,00	0,97
1,50	1,48

§ II. — Par précipitation de phospho-molybdate d'ammonium

SONNENSCHN (1) a établi un procédé de dosage de l'acide phosphorique, applicable en présence de Ca, Al, Fe..., par précipitation de phospho-molybdate d'ammonium, dissolution de ce dernier dans l'ammoniaque et dosage par la mixture magnésienne.

Indiquons de suite que ce mode de précipitation est extrêmement sensible; EGGERTZ (2) a remarqué, il y a déjà longtemps, qu'il était possible de déceler nettement 0 mgr. 01 de phosphore au moyen de la liqueur molybdique.

Divers auteurs, entre autres POUGER et CHOUGHAK (3) GRÉGOIRE (4) ont pratiqué le dosage de très faibles quantités d'acide phosphorique par colorimétrie; à l'aide de nitromolybdate d'ammonium et de strychnine ou de quinine; cependant ces procédés demandent une appréciation subjective, forcément variable suivant l'observateur.

De même EMBDEN (5), JAVILLIER (6), reprenant les travaux de ces auteurs, ont établi un dosage du phosphore par pesée de phospho-molybdate de nitro-strychnine.

POSTERNAK (7) se rapportant au mémoire de RIEGLER (8) a proposé un microdosage de P^2O^5 en traitant la solution de phospho-molybdate dans l'ammoniaque par le chlorure de

(1) *Journ. f. prakt. Chem.*, t. LIII, p. 343.

(2) *Journ. f. prakt. Chem.* t. LXXIX, p. 496.

(3) *Bull. Soc. chim.* (4), t. V, p. 104; t. IX, p. 649.

(4) *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXVII, p. 879.

(5) *Z. f. physiol. Chem.*, t. CXIII, p. 138.

(6) *Ann. Sc. Agr.*, t. XXXX, p. 343.

(7) *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXVII, p. 507-564.

(8) *Zeit. anal. Chem.*, t. XXXXI, p. 675.

baryum et calculant après calcination le poids de phospho-molybdate de baryum formé ; quoique longue, cette méthode très sensible fournit d'excellents résultats.

MACHEBOEUF (1) a établi un microdosage en dissolvant le phospho-molybdate d'ammonium dans l'ammoniaque et déterminant acidimétriquement par retour la quantité de soude nécessaire à la décomposition de ce sel ammoniacal à l'ébullition.

M^{me} HINGLAIS (2) a appliqué la méthode de COPAUX à la détermination de petites quantités de phosphore contenu dans les tissus et est parvenu à trouver des résultats précis.

Nous nous sommes proposé de déterminer en vue du microdosage de P^{205} la quantité d'ammoniaque combiné à l'état de phospho-molybdate d'ammonium en utilisant l'appareil de PARNAS et WAGNER.

Cependant, suivant LORENZ (3), BAXTER (4), FALK et SUGIURA (5), pour ne citer que les travaux les plus importants, la composition du phospho-molybdate varie suivant les conditions dans lesquelles il a été formé.

D'autre part, POSTERNAK (6) a montré que dans certains cas, en présence de nitrate ou de sulfate d'ammonium et en milieu nitrique ou sulfurique, le précipité est souillé de nitro ou sulfo-molybdate d'ammonium.

Or, le dosage du phosphore présent dans les matières organiques ne s'effectue qu'après destruction sulfo-nitrique, (7),

(1) *Bull. Soc. chim. biol.*, t. VIII, p. 464.

(2) *Bull. Soc. chim. biol.*, t. IX, p. 540.

(3) *Landwirtsch Versuchstationen*, t. LV, p. 183.

(4) *Amer. Chem. J.*, t. XXVIII, p. 296.

(5) *J. of the Amer. Chem. Soc.*, t. XXXVII, p. 1507.

(6) *C. R. Ac. Sc.*, t. CLXX, p. 930.

(7) Cette destruction est effectuée dans un matras microkjeldahl en opérant avec 1 cc. SO_4H^2 concentré, portant à l'ébullition quelques minutes puis ajoutant 1 cc. NO_3H et chauffant à nouveau.

de là une erreur par excès causée par formation de sulfo-molybdate d'ammonium.

Malgré toutes ces observations, nous avons tenté l'étude envisagée, les travaux précédents portant sur des quantités importantes de produit et non pas sur les faibles proportions que nous avons à doser.

Examinons tout d'abord la correspondance existant entre Az et P^2O^5 dans la molécule de phospho-molybdate d'ammonium.

La formule $PO^4 (Mo O^3)^{12} (Az H^4)^3$ montre qu'à 6 Az correspond 1 P^2O^5 , d'où :

$$1000 \text{ cc. } SO^4 H^2 N \rightarrow 14 \text{ gr. Az} \rightarrow 23 \text{ gr. } 7 P^2 O^5$$

$$\text{et } 1 \text{ cc. } SO^4 H^2 \frac{N}{100} \rightarrow 0 \text{ gr. } 237 P^2 O^5$$

La quantité de $SO^4 H^2 \frac{N}{100}$ étant de 5 cc., la proportion en mgr. de $P^2 O^5$ contenue dans la prise d'essai est :

$$(5 - n) 0,237$$

n étant le nombre de cc. de $NaOH \frac{N}{100}$ versés à la micro-burette.

Cette relation comparée à celle indiquée pour le dosage de $P^2 O^5$ par $PO^4 Mg NH^4$ montre que la sensibilité de cette deuxième méthode est trois fois plus grande que la précédente.

Envisageons maintenant la technique suivie.

Dans un tube à centrifugeuse on introduit la solution phosphorique et 2 cc. d'azotate d'ammonium à 20 o/o, on porte quelques minutes au bain-marie vers 60° et on ajoute 3 cc.

de réactif nitromolybdique (1), on mélange et abandonne dix minutes. Le précipité est ensuite rassemblé par centrifugation à grande vitesse et le liquide surnageant décanté.

Nous avons pensé à réaliser le lavage du précipité, par centrifugation et décantation, grâce à la solution nitro-molybdique suivante :

Molybdate de soude	15 gr.
Eau	100 cc.
Acide azotique ($d = 1,20$)	100 cc.

Or les résultats trouvés (0 mgr. 80 au lieu de 1 mgr.) ont nettement prouvé que cette liqueur était susceptible de dissoudre une faible proportion de phosphomolybdate (2).

Cette solubilité a, du reste, été montrée ainsi :

Le précipité émulsionné dans la solution de nitromolybdate de soude et centrifugé, fournit constamment des eaux de lavage présentant une réaction positive au NESSLER ; ce même précipité lavé à l'alcool à 60° a donné une solution exempte d'ammoniaque. A nouveau traité par le réactif nitromolybdique, la liqueur décantée a montré une réaction positive au NESSLER.

Il est donc permis de conclure que le phosphomolybdate d'ammoniaque est partiellement soluble dans la solution de nitromolybdate de soude, et insoluble dans l'alcool à 60° à froid. L'alcool à 60° (3) sera donc utilisé pour le lavage de

(1) Le réactif utilisé est le suivant :

Molybdate d'ammoniaque	15 gr.
Eau	100 cc.
Acide azotique ($d = 1,20$)	100 cc.

Abandonner plusieurs jours avant l'emploi.

(2) Si le lavage est effectué à chaud vers 70°, la solution surnageante prend une coloration jaune.

(3) Le précipité se rassemble beaucoup plus difficilement si on utilise l'alcool à 95°.

ce composé ; en général deux traitements suivis de centrifugation suffisent, ce qui sera facile de constater au réactif de NESSLER.

D'autre part, il arrive fréquemment que le précipité se rassemble difficilement dans la partie effilée du tube à centrifugation, aussi est-il prudent de décanter la solution surnageante sur un microfiltre de PREGL (1).

On verse ensuite quelques cc. d'abord sur ce dernier, puis 5 cc. environ d'acide chlorhydrique à 50/o chauffé vers 60°, pour dissoudre les traces de précipité resté sur le filtre ; ce liquide réuni au précipité émulsionné dans l'eau est ensuite introduit dans le ballon de l'appareil PARNAS et WAGNER. Le dosage est terminé comme il a été maintes fois indiqué, en traitant par la soude, dans lequel le phosphomolybdate est soluble, et déterminant acidimétriquement l'ammoniaque dégagé.

Nous avons cherché d'autre part si la présence d'acide sulfurique gênait le dosage ; il n'en est rien, les chiffres obtenus étant identiques avec et sans addition de cet acide à la dose de X gouttes ; il sera donc possible d'effectuer le microdosage de P^2O_5 après destruction sulfo-nitrique des matières organiques.

Il était ensuite intéressant d'examiner si le phosphomolybdate d'ammonium précipité, en présence d'azotate d'ammoniaque n'était pas souillé de nitromolybdate, comme l'a indiqué POSTERNAK (2) pour les macrodosages. Aussi, après dosage classique de l'ammoniaque de ce précipité, nous avons introduit de la poudre d'aluminium (3) dans le ballon

(1) Voir *Microanalyse organique quantitative*, par F. PREGL. Traduction française par G. WELTER, 1923.

(2) *Loc. cit.*

(3) La solution a été neutralisée partiellement au préalable, la réaction $Al - NaOH$ étant tumultueuse.

de l'appareil PARNAS et WAGNER, et recherché l'ammoniaque dans le distillat par le NESSLER après réduction du nitromolybdate par l'hydrogène naissant (1) ; la réaction négative a prouvé que le phosphomolybdate était exempt de réactif précipitant.

Les nombreux microdosages de P^2O^5 ont permis de retrouver très approximativement les quantités mises en expérience, ainsi que le montre le tableau suivant :

P^2O^5 mis en œuvre (en mgr.)	P^2O^5 trouvé (en mgr.)
0,20	0,19
0,50	0,48
0,80	0,77
1,00	0,97

Il sera avantageux de ne pas doser une quantité de P^2O^5 supérieure à 1 mgr., le précipité étant trop abondant, et les lavages difficiles à effectuer.

§ III. — Applications

Le microdosage de l'acide phosphorique a été appliqué tout d'abord à quelques cendres végétales, dont les teneurs en phosphates sont variables, comme le prouvent les résultats suivants, exprimés en P^2O^5 o/o de cendres.

Moutarde noire Abyssinie (graines).	29,10
Moutarde blanche (graines)	38,90
Lin (graines)	43,40

(1) Voir page 65.

D'autre part, nous avons déterminé la teneur en P^2O^5 de certains vins, en traitant 0 cc. 2 à 0 cc. 5 par 1 goutte NO^3H au bain-marie bouillant jusqu'à décoloration, puis par le réactif nitro-molybdique. Voici quelques chiffres obtenus (1) :

Vin A.	0 gr. 250 P^2O^5 o/o
Vin B.	0 gr. 180 —

Enfin nous nous sommes proposé d'évaluer le taux de P^2O^5 contenu dans le sang de cheval défibriné en opérant sur 1 cc. et détruisant les matières organiques par le mélange sulfo-nitrique (2) ; le chiffre est fort voisin de celui obtenu par MACHEBOEUF (3) : 0 mgr. 570 P^2O^5 par cc.

La microméthode proposée en vue du dosage de P^2O^5 est générale, exacte, rapide et peut rendre certains services plus particulièrement en chimie biologique.

(1) Voir à ce sujet A. GAGNIÈRE. Th. Doct. Univ. (Pharm.). Montpellier 1927.

(2) Voir page 40.

(3) *Loc. cit.*

CHAPITRE III

Microdosage de l'acide glycérophosphorique

Le dosage des glycérophosphates exige comme opération préalable la transformation du phosphore organique en phosphore minéral, capable d'être déterminé quantitativement d'après les méthodes précédentes.

Différents auteurs, entre autres FLEURY et SUTU (1), ont montré que les glycérophosphates de soude α et β étaient très faiblement hydrolysés (5 o/o environ) même après ébullition durant 8 heures en présence d'acide chlorhydrique à 20 o/o, et que dans des conditions semblables une solution de soude à 30 o/o ne parvenait pas à libérer de phosphore minéral (2).

De même CAVALIER (3) a examiné les sels de divers éthers phosphoriques acides (méthyl, éthyl, allyl) et a constaté qu'ils étaient indécomposables en solution aqueuse ou alcaline,

(1) *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXXX, p. 1716.

(2) IMBERT et BELUGOU [*Bull. Soc. chim.* (3), t. XXI, p. 935] ont montré que l'éthérification de l'acide phosphorique par la glycérine dépend non seulement de l'état d'hydratation de l'acide et de la température, mais encore du temps; le rendement en acide glycérophosphorique est fonction de ces divers facteurs.

(3) *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXVII, p. 114. Th. Sciences, Paris 1898.

même à 90°. D'autre part, KARRER et SALOMON (1) ont remarqué la grande résistance d'un éther oxyde diméthylque d'un acide glycérophosphorique, vis-à-vis des acides dilués. Cependant, si la décomposition par les acides ou alcalis est difficile, il n'en est pas de même de l'hydrolyse fermentaire par la glycérophosphatase de NEMEC (2) contenue dans diverses graines, entre autres dans celles de *Brassica Nigra* et *Sinapis Alba*; c'est ainsi qu'avec une solution de glycérophosphate de soude à 2 o/o, le dosage du phosphore minéral montre que 25 o/o du phosphore total est hydrolysé après 24 heures.

Nous pouvons donc dire avec FLEURY et SUTU, « qu'il importe de noter la résistance des glycérophosphates, remarquable pour des éthers-sels, aux agents chimiques d'hydrolyse et tout particulièrement à un alcali tel que la soude, et par opposition, la facilité relative avec laquelle un agent biochimique, comme la glycérophosphatase, amène leur saponification ».

§ I. — Méthode proposée

La décomposition par voie humide étant inapplicable, de nombreux auteurs, entre autres FLEURY et SUTU (3) ont détruit la matière organique par voie sèche en utilisant le procédé dit de destruction « nitrico-magnésienne » décrit par FONTÈS et THIVOLLE (4).

Nous avons préféré effectuer la minéralisation du phosphore par le mélange acide sulfurique-permanganate de

(1) *Helv. Chem. Acta*, t. IX, p. 3.

(2) *Biochem. Zeit.*, t. CXXXVII, p. 570.

(3) *Journ. Pharm. et Chim.*, t. V, p. 56.

(4) *Bull. Soc. Chim. biol.*, t. V, p. 783.

potasse, cette décomposition étant plus simple et plus rapide que la fusion oxydante classique avec les nitrates de potassium ou de magnésium.

Comment effectuer cette *destruction sulfo-manganique* ?

Dans une capsule de contenance voisine de 5 cc. on introduit une prise d'essai représentant 0 mgr. 5 à 1 mgr. de $P^2 O^5$, soit approximativement 2 à 4 mgr. de glycérophosphate de soude ou 1,5 à 3 mgr. de glycérophosphate de chaux ; on évapore presque à sec et on ajoute après refroidissement III gouttes de permanganate à 5 o/o, II gouttes $SO^4 H^2$ concentré et on porte à nouveau avec précaution au bain de sable jusqu'à léger dégagement de vapeurs blanches, on ajoute alors 1 cc. d'eau, 1 goutte de permanganate et on chauffe quelques minutes. La décomposition effectuée en dix minutes environ, l'excès d'oxydant est éliminé par II gouttes d'alcool ajouté au mélange encore chaud. On filtre sur papier humecté d'eau dans un tube à centrifugation cylindro-conique, on rince capsule et filtre, puis le filtrat est traité par le réactif nitromolybdique comme il a été indiqué page 42.

Il est avantageux de transformer $P^2 O^5$ en phospho-molybdate d'ammonium plutôt qu'en $PO^4 Mg NH^4$ pour la raison suivante :

La solution renferme, en effet, du sulfate de manganèse qui, pour ne pas être précipité à l'état d'hydrate (1) par l'ammoniaque, nécessite une quantité importante de chlorure d'ammonium ; de plus dans certaines conditions, comme pour le magnésium, du phosphate ammoniaco-manganeux peut prendre naissance, ce qui fausserait les résultats.

(1) Cet hydrate gélatineux peut adsorber de l'ammoniaque difficilement entraînable par lavage à l'alcool.

Nous avons vérifié que la minéralisation du phosphore était totale en opérant soit sur le glycérophosphate de soude cristallisé à 23,100 o/o P^2O^5 , soit sur le sel de calcium à 29,250 o/o P^2O^5 (1) ; les résultats sont groupés dans le tableau ci-après :

	Prise d'essai (en mgr.)	P^2O^5 en mgr.	
		Théorie	Trouvé
Glycéro. $\left\{ \begin{array}{l} \\ \\ \text{Ca} \end{array} \right.$	1	0,23	0,22
	3	0,69	0,67
	5	1,15	1,12
Glycéro $\left\{ \begin{array}{l} \\ \text{Na} \end{array} \right.$	1,5	0,44	0,43
	3	0,88	0,86

Les résultats sont donc entachés d'une très faible erreur.

Envisageons maintenant le dosage P^2O^5 d'une saccharure granulé de glycérophosphate de chaux, en appliquant un procédé identique.

Les quantités de permanganate ont dû être augmentées et portées à XV gouttes environ ; de plus il est indispensable de verser progressivement ce réactif, en ayant soin de ne continuer l'addition qu'après décoloration complète ; la destruction conduite comme il a été indiqué s'effectue en une demi-heure (2).

(1) Les produits utilisés ont été dosés par le procédé du Codex, après traitement par le nitrate de potasse et dosage à l'état de $P^2O^7Mg^2$; de plus les glycérophosphates de soude et de calcium ont été titrés acidimétriquement selon la méthode classique d'ASTRUC.

(2) Pour éviter toute projection, on interposera un anneau de fer entre le fond de la capsule et le bain de sable ; la chauffe sera ainsi plus régulière

Les résultats obtenus sont satisfaisants et montrent que la minéralisation du phosphore est totale même en présence de quantité importante de saccharose.

Voici quelques chiffres :

Prise d'essais (en mgr.)	P ² O ⁵ en mgr.	
	Théorie	Trouvé
1,5 glycéro. Ca + 15 saccharose	0 44	0 43
3 — — + 30 —	0 88	0 86

Divers granulés commerciaux ont été examinés ; les dosages ont montré qu'ils étaient conformes aux titres indiqués. Quelques solutions officinales de glycérophosphate de soude ont été dosées, leur titre a été trouvé fort voisin de 50 o/o de produit pur, taux prescrit par le Codex.

Telle est la méthode que nous proposons parallèlement avec le procédé acidimétrique d'ASTRUC (1) pour déterminer les valeurs des différents produits officinaux ; elle est facile à exécuter, rapide et les erreurs ne dépassent jamais 3 o/o.

§ II. — Loi d'action de la glycérophosphatase

Nous nous sommes proposé d'exprimer la loi présidant à l'hydrolyse du glycérophosphate de soude par la glycérophosphatase, donnant naissance à du phosphate de soude et à de la glycérine. Les réactions chimiques sont régies par une loi énoncée sous une forme définitive en 1864 par GULDBERG et WAAGE, selon laquelle l'action chimique d'un corps est proportionnelle à sa concentration.

(1) Thèse de Pharm. 1^{re} classe 1898. — Voir également IMBERT et ASTRUC, *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXV, p. 1039.

La méthode utilisée en vue de cette étude est celle de E. DUCLAUX (1). Elle consiste à déterminer la proportion de substance transformée, pendant le même temps, dans des systèmes contenant le même corps à différentes concentrations.

Si la loi des masses est vérifiée, le rapport entre les quantités de matière décomposée doit être égal à celui des concentrations.

Il nous a été possible de doser à l'aide du réactif nitromolybdique le phosphore minéral formé par hydrolyse, en présence du glycérophosphate non décomposé. BAILLY et GAUMÉ (2) ont montré, en effet, que cette solution n'était pas susceptible d'hydrolyser le glycérophosphate, si l'on a soin de ne pas prolonger le contact du réactif et d'opérer à froid.

Ces faits sont d'ailleurs confirmés par les expériences de FLEURY et SUTU (3) qui ont trouvé que même après un an, 2 o/o seulement du phosphore total était hydrolysé par le réactif de COPAUX, prouvant ainsi que les glycérophosphates possèdent une stabilité remarquable comme nous l'avons déjà exposé.

Les données théoriques étant précisées, indiquons la technique suivie.

Examinons tout d'abord la préparation du liquide diastatique contenant la glycérophosphatase.

Des macérations durant 24 heures à 37° avec deux grammes de poudre de graines de *Sinapis Alba* et 70 cc. d'eau sont effectuées en présence de quelques gouttes de toluène, et les filtrats neutralisés par $\text{Na OH } \frac{\text{N}}{10}$.

(1) *Traité de Microbiologie*, t. II, Chapitre VIII.

(2) *Journal Pharm. et Chim.* (8), t. I, p. 241-321.

(3) *Journ. Pharm. et Chim.* (8), t. V, p. 56.

D'autre part, des quantités connues de glycérophosphate de soude pur sont dissoutes dans 20 cc. d'eau, et ces solutions mélangées aux différents liquides fermentaires, complétées à 100 cc. et portées à 20°.

Un macéré identique, ne contenant pas de glycérophosphate, sert de témoin en vue de la détermination du phosphore décomposable par le réactif nitromolybdique. Cependant une remarque s'impose : ce réactif précipite les matières mucilagineuses présentes dans le liquide fermentaire.

Le phosphomolybdate prenant naissance est enrobé par ce mucilage et il est difficile de le débarrasser par lavage à l'alcool, de l'excès de nitromolybdate d'ammoniaque. On devra donc éliminer ces substances végétales avant de précipiter le phosphore.

Dans ce but, le mélange à doser est placé dans un tube à centrifugation, additionné de 1 cc. de nitromolybdate de soude (1) et chauffé cinq minutes au bain-marie à 60°. Après centrifugation et lavage du culot, la liqueur est décantée dans un tube identique, traitée par le réactif nitro-molybdate d'ammoniaque et le dosage terminé selon la méthode indiquée (2) en réalisant la précipitation à froid.

Nous avons vérifié que ce procédé ne comportait pas d'erreur, en déterminant ainsi une quantité donnée de phosphate de soude en présence de matières mucilagineuses.

Cette méthode appliquée, selon la technique proposée, à la réaction glycérophosphate-glycérophosphatase a fourni les résultats suivants :

(1) La formule de cette solution est indiquée page 42. Ce réactif joue le rôle de défécant et non de précipitant.

(2) Nous avons vérifié que la glycérine, formée par hydrolyse, ne gênait pas le microdosage de $P^3 Q^5$.

Concentration en glycérophosphate	P ³ O ⁵ hydrolysé en 2 h. (en mgr.)
0,250 o/o	7,4
0,500 o/o	14,5
1 o/o	28,6
2 —	2,1
10 —	51,3
20 —	33,4

Ainsi que le montrent ces chiffres, pour de très faibles proportions de glycérophosphate de soude, l'hydrolyse est conforme à la loi des masses : puis la concentration augmentant, celle-ci n'est plus vérifiée, et même au delà de 10 o/o la réaction suit une loi inverse à celle formulée par GULDBERG et WAAGE.

Cette étude fournit des résultats identiques à ceux trouvés pour NEMEC (1) en appliquant la relation logarithmique :

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

dans laquelle a représente la quantité de glycérophosphate et x la proportion d'éther hydrolysé au bout du temps t . Cet auteur a montré que les valeurs de K sont approximativement semblables pour une concentration de 1 o/o en glycérophosphate. Les résultats sont comparables à ceux trouvés par BARTH, DUCLAUX pour l'invertine et nous-même pour la myrosine.

Nous pouvons donc conclure comme l'a fait ACHALME (2) pour la réaction saccharose-saccharase :

(1) *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XXVII, p. 153.

(2) *Electronique et Biologie*, p. 512.

1° Pour les solutions très diluées, l'hydrolyse du glycérophosphate de soude par la glycérophosphatase paraît suivre la loi des masses;

2° Pour les plus fortes concentrations, elle n'est plus conforme à cette loi et paraît même suivre une loi inverse, la vitesse d'hydrolyse diminuant à mesure que les proportions de glycérophosphate augmentent.

§ III. — Influence de la viscosité sur la réaction glycérophosphate-glycérophosphatase

Depuis les travaux d'ACHALME et BRESSON (1), de BOURQUELOT (2) sur l'invertine, on peut considérer comme définitivement établie l'influence de la viscosité sur les réactions diastasiques.

Nous avons constaté qu'il en était de même pour la myrosine (3), en montrant graphiquement que les durées d'hydrolyse du myronate augmentent avec les viscosités des milieux.

Envisageons l'influence de la viscosité sur la réaction fermentaire glycérophosphate-glycérophosphatase.

Celle-ci est intéressante à étudier, car elle conduit à la formation de glycérine (4), dont le coefficient de viscosité est des plus élevés.

L'étude de l'hydrolyse du glycérophosphate de soude pur en milieux visqueux obtenus par addition de glycérine a été envisagée.

(1) *C. R. Ac. Sc.*, t. CLII, p. 1328-1420.

(2) *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. XVII, p. 65-113.

(3) *Th. Pharm. Sup.*, 1927, p. 74.

(4) 1 gramme de glycérophosphate de soude donne 0 gr. 300 de glycérine par hydrolyse totale.

Les viscosités relatives de ces mélanges ont été déterminés à l'aide du viscosimètre BAUME et en appliquant la formule de POISEUILLE simplifiée :

$$n = \frac{t}{t'} \cdot d$$

t = temps d'écoulement du liquide.

t' = temps d'écoulement de l'eau distillée.

d = densité du liquide.

Les hydrolyses ont été effectuées à partir de 1 gr. de glycérophosphate de soude dissous dans 90 cc. de soluté glyciné et additionné de 10 cc. d'un macéré filtré à 20 o/o de *Sinapis Alba* préparé 24 heures à l'avance ; les proportions de $P^2 O^5$ hydrolysé ont été déterminées (1) deux heures après. Voici quelques résultats rapportés au volume total :

	Mgr
Hydrolyse avec eau distillée	29,1
— — eau glycinée à 10 o/o ($n = 1,30$).	23,2
— — eau glycinée à 25 o/o ($n = 1,87$).	15,5

L'addition de glycérine produit une action paralysante sur la réaction fermentaire ; sa formation durant l'hydrolyse peut donc entraver la décomposition du glycérophosphate, ce qui permet de considérer avec ACHALME (2) que le facteur viscosité doit intervenir dans les calculs de la vitesse de réaction ; c'est une raison pour laquelle on peut penser que la loi des masses n'est pas vérifiée pour des concentrations élevées comme il a été démontré.

(1) Nous avons utilisé la méthode de dosage proposé, p. 52, en déduisant le phosphore décomposable par le réactif nitromolybdique dans le macéré de *Sinapis Alba* ; il a été vérifié de plus qu'à la dose indiquée, la glycérine ne gênait pas le microdosage de $P^2 O^5$.

(2) C. R. Ac. Sc., t. CLII, p. 1621.

CHAPITRE IV

Microdosage d'un acide libre dans quelques milieux végétaux complexes

§ 1. — Méthode proposée

Le dosage acidimétrique direct réalisé à l'aide d'une solution alcaline $\frac{N}{100}$, en présence de rouge de méthyle, n'est pas toujours applicable, une coloration ou un précipité pouvant gêner le virage de l'indicateur coloré et provoquer ainsi une erreur.

Nous avons pensé que dans ces conditions, il était préférable de combiner l'acide libre à l'ammoniaque, et de déterminer ensuite microchimiquement la proportion de sel ammoniacal formé.

L'ammoniaque libre, non transformé en sel ammoniacal, est chassé par ébullition durant dix minutes.

En vue de cette étude, nous avons placé la solution acide dans un petit bêcher, ajouté 11 gouttes d'ammoniaque, 10 cc. d'eau et porté à l'ébullition dix minutes en maintenant le volume primitif par addition d'eau.

La solution a été ensuite introduite dans le ballon de l'appareil PARNAS et WAGNER, et le dosage terminé selon la technique adoptée.

Voici quelques résultats :

$\text{SO}^+\text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$	cc. $\text{SO}^+\text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$	cc. Na OH $\frac{\text{N}}{100}$	$\text{SO}^+\text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$ trouvé
mis en œuvre			
0 cc. 5.....	2	1 52.....	0 cc. 48
1 cc.....	2	0 97.....	1 cc. 03
2 cc. 5.....	5	2 45.....	2 cc. 55

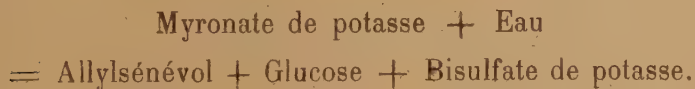
Des essais semblables réalisés avec $\text{H Cl} \frac{\text{N}}{100}$ ont fourni des résultats satisfaisants.

Nous avons de même effectué des microdosages en présence de talc, de sulfate de baryum, de matières colorantes végétales provenant de macéré de safran, garance, moutarde.

La macération de *Sinapis Alba* possédant une acidité propre due à la présence de sulfate acide de sinalbine, celle-ci a été déterminée et la quantité d'acide ajouté a pu être dosé comme plus haut, montrant ainsi que les matières mucilagineuses et autres n'entravent pas la détermination de l'acidité de la liqueur.

§ II. — Loi d'action de la myrosine

Bussy a établi en 1839 que le myronate de potasse contenu dans les graines de *Brassica Nigra* était hydrolysé par la myrosine suivant la réaction :



Dans un précédent mémoire (1), nous avons envisagé l'étude de la loi d'action de ce ferment, en déterminant les proportions d'allylsénévol dégagé.

Evaluons maintenant les quantités de sulfate acide de potassium, formé progressivement durant l'hydrolyse, selon une technique semblable à celle indiquée.

La myrosine s'altérant rapidement, il est préférable d'utiliser un macéré de *Sinapis Alba* (2).

Une macération à 37° avec deux grammes de poudre de moutarde blanche est effectuée en présence de toluène. Après 24 heures, le filtrat neutralisé presque exactement par $\text{Na OH } \frac{\text{N}}{10}$, est additionné d'une quantité connue de myronate (3) complété à 100 cc. et porté à 20°. Cette solution aussitôt préparée, l'acidité a été dosée sur 2 cc. à l'aide de la méthode proposée, puis les proportions de $\text{SO}^4 \text{ KH}$ évaluées à des temps connus.

Une réserve doit être faite à ce dosage ; nous avons, en effet, montré que par hydrolyse à côté de l'isosulfocyanate d'allyle, représentant 58 o/o du taux théorique, se forme du cyanure d'allyle et du soufre. Or, le soufre colloïdal traité par l'ammoniaque en vue de la détermination de $\text{SO}^4 \text{ KH}$, fournit du sulfure d'ammonium qui sera décomposé par la soude en libérant de l'ammoniaque au moment du dosage avec l'appareil de PARNAS et WAGNER. Il est donc indispensable d'éliminer ce soufre en flocculant par le sulfate de baryum précipité et lavé, ce corps possédant une propriété adsorbante très accusée vis-à-vis du soufre colloïdal.

(1) Th. Pharm. Sup. 1927, p. 80

(2) La méthode acidimétrique directe ne peut être appliquée, car le macéré de *Sinapis Alba* traité par un alcali prend une teinte jaune très accusée, gênant ainsi le virage du rouge de méthyle.

(3) Le glucoside a été gracieusement préparé par les laboratoires de la Pharmacie Centrale de France.

Ces données étant précisées, indiquons la technique suivie.

L'acidité propre de la solution étant dosée, il a été prélevé à des temps fixés 1 ou 2 cc. d'hydrolysate que nous avons introduits dans un tube à centrifugation, porté à l'ébullition pour détruire la myrosine et additionné de 2 cc. d'une émulsion de SO^4Ba à 1 o/o environ, puis placé au bain-marie bouillant durant dix minutes. Après centrifugation, le liquide a été décanté dans un petit bécher, le culot est lavé deux fois avec 5 cc. d'eau chaude et le décantat réuni au précédent.

Le contenu du bécher, additionné de 11 gouttes d'ammoniaque, est porté à l'ébullition durant dix minutes et le sulfate d'ammoniaque formé dosé en utilisant les solutions acide et alcaline $\frac{N}{100}$ ou $\frac{N}{200}$.

Possédant ainsi un procédé de dosage du bisulfate de potasse en milieux complexe, nous pouvons appliquer la formule logarithmique (1)

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

dans laquelle a représente la quantité de glucoside mis en expérience et x la proportion de myronate hydrolysé au bout du temps t .

Pour constater si la réaction suit une loi conforme à celle formulée par GULDBERG et WAAGE, il suffit d'examiner si K reste constant pendant toute la durée de l'hydrolyse.

Nous déterminerons en outre si la réaction fermentaire est du type linéaire ; en d'autres termes, si les proportions de myronate hydrolysé pendant des temps identiques sont égales, c'est-à-dire si $\frac{x}{t}$ reste constant.

Les résultats sont groupés dans le tableau suivant :

(1) La réaction myronate-myrosine est monomoléculaire, la concentration en myronate étant seule variable.

$a = 300^{\text{mgr}}$				$\log. a = 2,4771$				$K = \frac{1}{t} \log. \frac{a}{a-x}$		
t (en min ^{tes})	SO ⁴ H ² (en cc)	N 200 (en cc)	SO ⁴ KH (en mgr.)	x myronate hydrolysé (en mgr.)	$\frac{x}{t}$	$a-x$	$\log. (a-x)$	$\log. \frac{a}{a-x}$	K	
15	23.8		16.1	49.2	3.28	250.8	2.3993	0.0778	5.18×10^{-3}	
30	45		30.4	93.0	3.10	207.0	2.3160	0.1611	5.37	
60	76		51.4	157.3	2.62	142.7	2.1544	0.3227	5.38	
90	96		65.0	198.9	2.21	101.1	2.0047	0.4724	5.25	
120	110		74.5	227.9	1.89	72.1	1.8579	0.6192	5.16	
150	120		81.2	248.5	1.66	51.5	1.7118	0.7653	5.10	

Réalisons une expérience semblable, la concentration en myronate étant plus élevée, soit 3 o/o. Les résultats sont consignés dans le tableau ci-après :

$a = 3000^{\text{mer}}$				$\log. a = 3,4771$			$K = \frac{1}{t} \log. \frac{a}{a-x}$	
t (en min ^{utes})	SO_4H_2 N (en cc)	SO_4KH (en mgr.)	x myronate hydrolysé (en mgr.)	x	$a-x$	$\log. (a-x)$	$\log. \frac{a}{a-x}$	K
15	83	113	346	23.1	2654	3.4239	0.0532	3.54×10^{-3}
30	150	203	621	20.7	2379	3.3764	0.1007	3.35 —
60	240	325	994	16.5	2006	3.3023	0.1748	2.91 —
90	280	379	1160	12.9	1840	3.2648	0.2123	2.36 —
120	325	440	1346	11.2	1654	3.2185	0.2586	2.15 —
240	435	589	1802	7.5	1198	3.0785	0.3986	1.66 —

La lecture de ces tableaux montre tout d'abord que $\frac{x}{t}$ n'est pas constant, c'est donc que l'hydrolyse du myronate n'est pas représentée par un phénomène linéaire. De plus, pour une faible concentration en glucoside, $\frac{3}{1000}$, les valeurs trouvées pour K sont presque identiques ; la réaction est donc bien du type monomoléculaire irréversible.

Au contraire, pour une plus forte concentration, $\frac{3}{100}$, K n'est pas constant, il diminue avec le temps et la réaction n'est plus monomoléculaire irréversible.

Les résultats sont donc semblables à ceux déjà obtenus en déterminant les proportions d'allylsénévol (1) ; aussi nous est-il possible d'en déduire une conclusion identique : la vitesse d'hydrolyse diminue à mesure que les concentrations en myronate augmentent ; en d'autres termes *la loi logarithmique vérifiée pour de faibles proportions de glucoside, ne l'est plus pour de fortes concentrations.*

(1) Th. Pharm. Sup. 1927, p. 83.

CHAPITRE V

Microdosage du Potassium

De nombreux auteurs ont proposé le dosage du potassium par précipitation de cobaltinitrite double de potassium et de sodium (1). C'est ainsi que CLERFEYT (2) reprenant les travaux de KONINCK, a appliqué cette méthode aux engrais, terres, vins et obtenu des résultats comparables à ceux fournis par le procédé au chlorure de platine.

D'autre part HAMBURGER (3) a dosé de faibles quantités de potassium par évaluation du volume occupé par le colbatinitrite.

WENGER et HÉMEN (4), DELAVILLE et CARLIER (5) ont précipité le potassium à l'état de colbatinitrite double et déterminé la teneur en cobalt de celui-ci par voie électrolytique ou volumétrique.

Cependant la méthode préconisée par ces derniers auteurs est longue et minutieuse, elle nécessite la décomposition du

(1) Cette méthode est très sensible et permet de mettre en évidence 0 mgr. 001 de potassium en présence de 4 gr. de sodium, d'après BILLMANN.

(2) *Bull. Soc. chim. de Belgique*, t. XXVI, p. 417.

(3) *R. Tr. Ch. P. B.*, t. XXXV, p. 225.

(4) *Ann. Chim. anal. et Chim. appl.* (2), t. II, p. 198.

(5) *Bull. Soc. chim. biol.*, t. VIII, p. 481.

cobaltinitrite par le nitroso β naphthol, la micro-incinération du précipité et le dosage selon la méthode phosphomolybdique après réduction de l'oxyde de cobalt par un courant d'hydrogène.

KRAMMER et TISDALL (1) ont décrit un procédé consistant dans le dosage manganométrique des groupements nitreux présents dans le cobaltinitrite double ; mais, comme l'indiquent judicieusement DELAVILLE et CARLIER, ce procédé demeure inapplicable pour de faibles proportions de potassium, la solution de permanganate devant être très diluée et le virage devenant incertain ; de plus les produits nitreux peuvent échapper partiellement au dosage.

Nous nous sommes proposé de déterminer la teneur du cobaltinitrite de potassium et de sodium en azote nitreux, après réduction de ce dernier en azote ammoniacal (2).

Comment effectuer cette transformation ?

Par l'hydrogène naissant.

Ce dernier provenant de l'attaque du zinc par un acide n'a pu être utilisé, l'acide décomposant le cobaltinitrite avec

(1) *Journ. Biological Chemistry*, 17 février 1921.

(2) Nous avons songé à établir un microdosage de potassium en déterminant la proportion d'azote ammoniacal contenu dans Pt Cl_4 , $2 \text{NH}_4 \text{Cl}$. Pour cette étude, le potassium est précipité à l'état de Pt Cl_4 , 2K Cl ; ce composé lavé à l'alcool par centrifugation et décantation, est dissous dans l'eau chaude et la solution traitée à chaud par le formiate de soude. Le platine ainsi réduit est attaqué par 1 goutte d'eau régale ; la liqueur évaporée, étendue d'un peu d'eau, est additionnée de 11 gouttes $\text{NH}_4 \text{Cl}$ au $1/20^\circ$; le précipité formé est lavé à l'alcool, dissous dans l'eau et l'ammoniaque dosé par l'appareil PARNAS et WAGNER. Cependant cette méthode quoique assez simple à réaliser et n'utilisant que de faibles quantités de Pt Cl_4 facilement récupérables, est resté inapplicable, les résultats étant erronés par défaut.

Ainsi pour 1 mgr. de potassium, le dosage n'a permis de retrouver que 0 mgr. 83 ; il ne faut pas oublier, en effet, que Pt Cl_4 , $2 \text{NH}_4 \text{Cl}$ est soluble dans l'alcool fort à raison de $1/28.000$, et que Pt Cl_4 , 2K Cl y est encore plus soluble, $1/14.000$.

mise en liberté de produits nitreux pouvant ne pas être réduits et transformés en ammoniaque ; aussi avons-nous employé un alcali tel que l'eau de chaux, et remplacé la poudre de zinc par celle d'aluminium beaucoup plus ténue.

L'attaque est lente, régulière avec l'eau de chaux, tandis qu'elle est tumultueuse avec la soude ; de plus, il suffit d'élever légèrement la température pour voir la réaction se poursuivre.

Examinons la correspondance entre l'azote et le potassium présents dans la molécule de cobaltinitrite. Il est établi que le cobaltinitrite de sodium $\text{Co}(\text{NO}^2)^6 \text{Na}^3$ produit en milieu acétique un précipité jaune, cristallin de cobaltinitrite double de sodium et de potassium $\text{Co}(\text{NO}^2)^6 \text{K}^2 \text{Na}$ ce qui montre que :

6 Az correspond à 2 K

d'où 1.000 cc. $\text{SO}^4 \text{H}^2 \text{N} \rightarrow 14 \text{ gr. Az} \rightarrow 13 \text{ gr. } 03 \text{ K}$

et 1 cc. $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100} \rightarrow 0 \text{ mgr. } 1.303 \text{ K}$

Le volume de $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$ étant de 5 cc. et celui de $\text{Na OH} \frac{\text{N}}{100}$ versé à la microburette de n^{cc} , la quantité de potassium contenu dans la prise d'essai est :

$$(5 - n) \cdot 0,1303$$

Cette méthode est donc très précise : 0 cc. 77 $\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$ correspondant à 0 mgr. 1 de potassium.

Comment précipiter le potassium ?

Le réactif précipitant est préparé en mélangeant volumes égaux des deux solutions suivantes :

Azotate de cobalt	25 gr.
Acide acétique	25 cc.
Eau	250 cc.

Nitrite de soude	120 gr.
Eau	250 cc.

Le mélange est effectué 24 heures à l'avance en flacon bouché, de façon à saturer la solution de peroxyde d'azote et à éliminer les traces de potassium ; le réactif est centrifugé avant l'emploi. D'autre part, on introduit la liqueur potassique neutre (1) et exemple de sels ammoniacaux, dans un tube à centrifugation (2), puis on verse goutte à goutte en agitant 3 à 4 cc. de réactif au cobaltinitrite de soude, et on abandonne trois heures, le tube étant bouché. Ce temps étant écoulé, on centrifuge à grande vitesse et on lave trois fois le précipité par centrifugation et décantation à l'alcool à 95° (3). Il est indiqué de décanter sur micro-filtre de PREGL si la liqueur est opalescente après centrifugation.

(1) Les solutions alcalines seront acidifiées par l'acide acétique ; les solutions acides neutralisées par le carbonate de soude.

(2) Il est recommandé de laver les tubes avec le mélange sulfo-chromique, puis à l'eau, et enfin à l'alcool-éther ; dans ces conditions le précipité n'adhère pas aux parois du tube.

(3) Il a été montré que la solubilité du cobaltinitrite double de potassium et de sodium dans l'alcool fort était négligeable. Pour cela le produit pur a été mis en suspension dans 100 cc d'alcool à 95° ; ce dernier filtré est évaporé au bain-marie, nous avons repris le faible résidu par 1 goutte d'acide acétique, quelques cc. d'eau, et la liqueur transvasée dans un tube à centrifugation, puis traitée par le réactif nitricobaltique ; la quantité de potassium a été évaluée à 0 mgr. 03.

Le précipité est ensuite émulsionné dans 5 cc. d'eau de chaux, le tube est lavé avec 5 cc. du même réactif, et l'ensemble introduit dans le ballon de l'appareil de PARNAS et WAGNER. On ajoute alors 0 gr. 050 de poudre d'aluminium mise en suspension dans un peu d'eau distillée et on chauffe très légèrement ; l'hydrogène se dégage régulièrement et la réduction de l'azote nitreux s'effectue en dix minutes. On fait passer un courant de vapeur d'eau pour entraîner l'ammoniaque, et on termine le dosage d'après la technique adoptée.

Il est avantageux de ne pas opérer sur une quantité de potassium supérieure à 1 mgr., la centrifugation étant plus difficile à réaliser, et la réduction du produit émulsionnée plus longue.

Nous avons pu nous rendre compte que cette méthode fournit des résultats satisfaisants ; les chiffres suivants le prouvent :

K mis en œuvre (en mgr.)	$\text{SO}^4 \text{H}^2 \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	$\text{Na OH} \frac{\text{N}}{100}$ (en cc.)	K trouvé (en mgr.)
0 20	2	0 53	0 19
0 50	5	1 27	0 48.5
1 00	10	2 50	0 97.5

Envisageons quelques applications de cette méthode.

1) Ce microdosage a été appliqué en chimie végétale en vue de déterminer la proportion de potassium contenu dans les graines de *Brassica Nigra* et *Sinapis Alba*.

Pour cette étude, 0 gr. 100 de cendres ont été lessivées à l'eau chaude, puis le filtrat neutralisé par l'acide acétique, porté à 50 cc. et le dosage effectué sur 2 cc. de solution. Voici quelques résultats exprimés en potassium :

Brassica Nigra Calcutta (graines)...	20 4 o/o
Sinapis Alba (graines).....	21 8 —

Ces valeurs sont d'ailleurs fort voisines de celles que nous avons trouvées dans un autre mémoire (1) :

II) Le potassium a été dosé dans le sérum sanguin après désalbumination par addition d'un égal volume d'acide trichloracétique à 20 o/o et le dosage affectué sur 2 cc. de filtrat.

Les valeurs obtenues, soit en moyenne 0 mgr. 250 de potassium par cc. de sérum se rapprochent singulièrement des proportions trouvées par DELAVILLE et CARLIER (2).

(1) Th. Pharm. Sup. 1927, p. 44.

(2) *Loc. cit.*

CHAPITRE VI

Application de la méthode de Pregl à quelques composés pharmaceutiques

La microanalyse est fréquemment appliquée en chimie biologique ; c'est ainsi qu'entre autres le dosage de l'urée sanguine proposé par BORVIN (1) fourni des données chimiques intéressantes.

Elle est cependant rarement utilisée en Pharmacie, aussi appliquons la méthode de PREGL à quelques composés pharmaceutiques azotés tels que l'antipyrine et l'urotropine.

Pour cette étude 100 mgr. de substance sont dissous dans 100 cc. d'eau ; 1 ou 2 cc. de cette solution sont prélevés pour la microkjeldahlisation, placés dans un petit matras en Pyrex, additionné de 1 cc. d'acide sulfurique pur (2) et porté à l'ébullition quelques minutes.

La transformation en azote amoniacal effectuée, la liqueur incolore est introduite dans l'appareil PARNAS et WAGNER, et le dosage de l'ammoniaque réalisé classiquement.

Examinons le calcul ;

(1) Th. Médecine. Montpellier, 1926.

(2) Il est indiqué d'ajouter un petit cristal de sulfate de potasse et un autre de sulfate de cuivre.

I. La formule de l'*antipyrine* $C^{11} H^{12} Az^2 O$ montre que :

1000 cc. $SO^4 H^2 N \rightarrow 14$ gr. Az. $\rightarrow 94$ gr. antipyrine

et 1 cc. $SO^4 H^2 \frac{N}{100} \rightarrow 0$ mgr. 94 antipyrine

II. Pour l'*urotropine* $(CH^2)^6 Az^4$, la proportion d'azote indique que :

1000 cc. $SO^4 H^2 N \rightarrow 14$ gr. Az $\rightarrow 35$ gr. urotropine

et 1 cc. $SO^4 H^2 \frac{N}{100} \rightarrow 0$ mgr. 35 urotropine

Les essais effectués ont permis de vérifier que les divers produits examinés étaient conformes aux prescriptions du Codex.

La microméthode de PREGL, facilement réalisable, est ainsi appelée à rendre quelques services dans l'essai des médicaments azotés, les dosages étant rapides et exacts.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

L'intérêt sans cesse croissant qui s'attache à l'étude des méthodes microanalytiques, nous a conduit à établir divers microdosages pouvant être appliqués en Pharmacie et en Chimie biologique.

Nous nous sommes proposé de grouper dans notre mémoire quelques microdosages, *tous basés sur celui de l'ammoniaque* selon PREGL en utilisant l'appareil distillatoire ingénieux de PARNAS et WAGNER.

Exposons dans nos conclusions les techniques et applications des méthodes adoptées.

Le **microdosage du magnésium** consiste à déterminer la proportion d'azote ammoniacal combiné dans la molécule de $\text{PO}_4 \text{Mg NH}_4$, après lavage du précipité par centrifugation et décantation à l'alcool fort *chauffé vers 60°* de façon à annihiler l'adsorption d'ammoniaque.

La présence de calcium à côté du magnésium ne gêne pas le microdosage de ce dernier, si la teneur en alcalino-terreux n'est pas trop élevée et si on effectue la précipitation de $\text{PO}_4 \text{Mg NH}_4$ en milieu citrate d'ammonium ; cependant pour de fortes proportions de calcium, il est indispensable d'éliminer ce corps à l'état d'oxalate.

Cette technique appliquée à la détermination du taux de magnésium dans diverses sucraes, cendres végétales, **eaux**

minérales, eau de mer, a prouvé qu'elle était précise et facile à exécuter.

Rappelons de plus que $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ en solution ou émulsion aqueuse est facilement décomposé par ébullition, courant d'air ou pulvérisation suivant la réaction :



Il est donc inexact d'indiquer, comme il a été écrit dans tous les livres, que $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$ est insoluble dans l'eau bouillante, ce composé étant hydrolysé par ébullition en phosphate de magnésie insoluble et ammoniaque volatil.

Le **microdosage de l'acide phosphorique** a été envisagé en dosant la quantité d'azote ammoniacal contenu soit dans le $\text{PO}^4 \text{Mg NH}^4$, soit dans le phosphomolybdate d'ammonium, ces composés étant purifiés par lavage à l'alcool.

Appliquées comparativement aux microdosages, ces méthodes, en particulier la deuxième, ont montré une grande précision dans les résultats.

Examinons ensuite le **microdosage des glycérophosphates**. Ces éthers-sels possédant une stabilité remarquable vis-à-vis des acides et alcalis, l'hydrolyse par voie chimique n'a pu être appliquée ; aussi avons-nous procédé à la minéralisation du phosphore, grâce à la *destruction sulfo-manganique* ; cette méthode consiste à traiter à chaud le glycérophosphate par le mélange acide sulfurique-permanganate de potasse, le phosphore devient ainsi totalement précipitable par le réactif nitro-molybdique. Le granulé de glycérophosphate de chaux a été dosé par un procédé identique, mais la destruction de la matière organique est plus lente.

Cette technique présente l'avantage appréciable d'être rapide, et permet de réaliser le dosage exact des glycérophosphates et de leurs préparations.

Nous avons étudié, en outre, la loi d'action de la glycérophosphatase, ferment contenu dans diverses graines, entre autres dans celles de *Sinapis alba* ; les essais montrent que la loi des masses est vérifiée pour les solutions très diluées de glycérophosphate de soude, mais que l'hydrolyse fermentaire n'est plus conforme à cette loi pour de fortes concentrations

Le retard provoqué par la viscosité, sur la réaction glycérophosphate-glycérophosphatase a été mis en évidence, en comparant les proportions de P^2O_5 hydrolysé en un temps donné, avec la viscosité des milieux, celle-ci étant obtenue par addition de glycérine.

La détermination de l'**acidité des milieux végétaux** a été envisagée en fixant l'acide libre à l'état de sel ammoniacal, et calculant la proportion d'azote ammoniacal à l'aide de l'appareil PARNAS et WAGNER. Cette méthode a reçu son application à l'étude de la loi d'action du ferment myrosine sur le glucoside myronate de potasse, cette réaction diastatique donnant naissance à du sulfate acide de potassium ; la conclusion, semblable à celle formulée pour la glycérophosphatase, prouve que la vitesse d'hydrolyse diminue à mesure que les concentrations en myronate augmentent, vérifiant ainsi ce que nous avons établi par microdosage de l'allylsénévol.

Les recherches de chimie végétale et biologique nous ont conduit à examiner un **microdosage de potassium**, basé sur la précipitation de ce métal à l'état de cobaltinitrite double de potassium et de sodium. Après lavage du précipité

à l'alcool fort, la réduction des groupements nitreux a été effectuée dans l'appareil PARNAS et WAGNER, par action de l'eau de chaux sur la poudre d'aluminium, puis l'ammoniaque formé, dosé d'après la méthode adoptée.

Appliquée à la détermination du taux de potassium présent dans certaines cendres végétales, dans le sérum sanguin, cette méthode, de réalisation facile, a fourni des résultats précis.

Enfin, la microkjeldahlisation de PREGL permet de doser rapidement l'azote de certains composés pharmaceutiques, tels que antipyrine, urotropine, montrant ainsi l'intérêt que peuvent prendre les microdosages en Pharmacie.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- ACHALME (A.). — Electronique et Biologie, 1913. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLII, p. 1621.
- ACHALME (A.) et BRESSON. — Les lois d'action de la sucrase en tenant compte de la viscosité. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLII, p. 1328-1420.
- ASTRUC (A.). — Recherches sur la précipitation de la chaux à l'état d'oxalate, en présence de magnésie. *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XXI, p. 134.
- Etude sur l'essai de la magnésie calcinée. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. XVI, p. 65-110.
- Sur un nouveau procédé de titrage du glycérophosphate de chaux. *Th. Pharm. 1^{re} classe 1898. Bull. Pharm. Sud-Est 1898*, p. 85.
- BAILLY (O.) et GAUMÉ (J.). — Sur la composition et l'essai des glycérophosphates de calcium officinaux. *Journ. Pharm. et Chim.* (8), t. I, p. 241-321.
- BAXTER. — *Amer. Chem. J.*, t. XXVIII, p. 296.
- BOIVIN (A.). — Nouvelle méthode microanalytique du dosage de l'urée en biologie. *Th. Médecine Montpellier 1926*.
- BOURQUELOT (E.). — Influence de la glycérine sur l'activité de l'invertine. *Jour. Pharm. et Chim.* (7), t. XVII, p. 65-113.
- BRIGGS (A.). — Méthode colorimétrique pour le dosage de petites quantités de magnésium. *Journ. of biol. Chem.*, t. LII, p. 349. *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XXXII, p. 1832.
- CANALS (E.). — Du rôle physiologique du magnésium chez les végétaux. *Thèse Paris 1920*.

- Du dosage du calcium et du magnésium dans différents milieux salins. *Bull. Soc. chim.*, (4), t. XXIX, p. 583.
- CAVALIER (J.). — Recherches sur les éthers phosphoriques. *Thèse Paris 1898*.
- Vitesse de saponification des éthers phosphoriques. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXVII, p. 114.
- CLERFÉTY (E.). — Le dosage de la potasse par le nitrite cobaltico-sodique. *Bull. Soc. chim. de Belgique*, t. XXXI, p. 417.
- DELAVILLE (M.) et CARLIER (P.). — Microdosage du potassium dans les solutions pures et dans les milieux biologiques. *Bull. Soc. chim. biol.*, t. VIII, p. 481.
- DENIGÈS (G.). — Dosage extemporané, à l'aide d'une seule goutte d'eau de mer, du magnésium, dans les eaux marines. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1923*, p. 68.
- DUCLAUX (E.). — *Traité de Microbiologie*. 1898.
- EGGERTZ. — *J. f. prakt. Chem.*, t. LXXIX, p. 496.
- EMBDEN. — *Z. f. physiol. Chem.*, t. CXIII, p. 138.
- FALK et SUGIURA. — *J. of the Amer. Chem. Soc.*, t. XXXVII, p. 1507.
- FLEURY (P.) et SUTU (Z.). — Remarque sur l'hydrolyse comparée des acides glycérophosphoriques α et β par les agents chimiques et les ferments. *Bull. Soc. chim* (4), t. XL, p. 1716.
- Essai des glycérophosphates par la méthode de Copaux. *Journ. Pharm. et Chim.* (8), t. V, p. 56.
- FONTÈS (G.) et THIVOLLE (L.). — La Molybdo manganimétrie et ses applications. *Bull. Soc. chim. biol.*, t. V, p. 784.
- GAGNIÈRE (A.). — Etudes sur la composition et l'analyse des vins. *Th. Doct. Univ. (Pharm.) Montpellier 1927*.
- GIBBS (W.). — *Amer. Journ. of Science*, t. IV, p. 144.
- GRÉGOIRE (A.). — Note sur le dosage colorimétrique de l'acide phosphorique. *Bull. Soc. chim. de Belgique*, t. XXIX, p. 253. *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXVII, p. 879.

- HAMBURGER (H.-J.). — Méthode simple pour le dosage de quantités minimales de potassium. *R. Tr. Ch. P. B.*, t. XXXV, p. 225. *Bull. Soc. Chim.* (4), t. XXI, p. 32; t. XXIV, p. 589.
- HINGLAIS (M^{me} H.). — Sur l'application de la méthode de Copaux au dosage de petites quantités de phosphore dans les tissus. *Bull. Soc. chim. biol.*, t. IX, p. 540.
- HIRTH (R.). — Microdosage du magnésium dans le plasma sanguin. *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXXIII, p. 432.
- IMBERT (H.) et ASTRUC (A.). — Sur la neutralisation de l'acide glycérophosphorique par les alcalis, en présence d'héliantine A et de phénolphtaléine. *C. R. Ac. Sc.*, t. CXXV, p. 1039.
- IMBERT (G.) et BELUGOU (G.). — Vitesse et limite d'éthérification de l'acide phosphorique par la glycérine. *Bull. Soc. chim.* (3), t. XXI, p. 935.
- JAVILLIER (M.). — *Ann. Sc. Agr.*, XXXX, p. 343.
- KARRER (P.) et SALOMON (H.). — *Helv. Chem. Acta*, t. IX, p. 3.
- KISSEL. — *Zeitscher f. analyt. Chem.*, t. VII, p. 173.
- KRAMMER et TISDALL. — *J. Biological Chemistry*. 17 février 1921.
- LESURUR. — *C. R. Ac. Sc.*, t. LIX, p. 191.
- LORENZ. — *Landwitsch Versuchstationen*, t. LV, p. 183.
- MACHEBOEUF (M.). — Méthode permettant le dosage exact du phosphore dans de petites quantités de sang. *Bull. Soc. chim. biol.*, t. VIII, p. 464.
- MEILLÈRE (G.). — Réaction de Schlagdenhaufen; son application à l'essai des eaux minérales. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), t. XXVII, p. 339; t. XXVIII, p. 90.
- MOUSSERON (M.). — Recherches chimiques, physicochimiques et pharmaceutiques sur *Brassica nigra* et son essence. *Th. Pharm. Sup.* 1927.
- NEMEC (A.). — Sur la glycérophosphatase des graines, *Biochem. Zeit.*, t. CXXXVII, p. 570. *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXVII, p. 153.
- NICLOUX (M.). — La Microanalyse organique quantitative (Conférence). *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXXV, p. 1040.

- PARNAS et WAGNER. — *Biochem. Zeitsch.*, t. CXXV, p. 253.
- POUGET (I.) et CHOUGHAK (D.). — Dosage colorimétrique de l'acide phosphorique. *Bull. Soc. chim.* (4), t. V, p. 104; t. IX, p. 649.
- POSTERNAK (S.). — Sur les variations de la composition du phosphomolybdate d'ammonium. *C. R. Ac. Sc.*, t. CLII, p. 930. *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXVII, p. 804.
- De la technique du dosage de l'acide phosphorique à l'état de phosphomolybdate de baryum. *Bull. Soc. chim.* (4), t. XXVII, p. 507-564.
- PREGI (F.). — Microdosage organique quantitative. Traduction française par WELTER (G.). Les Presses Universitaires. Paris 1923.
- RIEGLER. — *Zeit. anal. Chem.*, t. XXXXI, p. 675.
- SCHLAGDENHAUFEN. — *Journ. Pharm. et Chim.* (4), t. XXVII, p. 378.
- SONNENSCHN. — *Journ. f. prakt. Chem.*, t. LIII, p. 343.
- TRAVERS (M.) et PERRON (M^{lle}). — Contribution à l'étude des orthophosphates simples et doubles des métaux : Li, Mg, Ca, Zn, Gl, Al. *Ann. Chim.* (10), t. I, p. 135 et 298; t. II, p. 43.
- WENGER (P.) et HÉMEN (C.). — A propos du dosage du potassium et de sa séparation d'avec le sodium au moyen du nitrite cobaltico-sodique. *Ann. Chim. anal. et Chim. appl.* (2), t. II, p. 198.
- YOVANOVITCH (A.). — Microdosage de l'ammoniaque. Application au dosage de l'ammoniaque urinaire. *Bull. Soc. chim. biol.*, t. VII, p. 665.
-

TABLE ANALYTIQUE

Avant-propos	9
Introduction... ..	11

CHAPITRE I.

Microdosage du magnésium.

§ I. — Méthode proposée	17
§ II. — Microdosage du magnésium en présence de calcium.	27
§ III. — Applications.....	29
APPENDICE. — Sur l'hydrolyse du phosphate ammoniaco-magnésien.. ..	32

CHAPITRE II.

Microdosage de l'acide phosphorique.

§ I. — Par précipitation de phosphate ammoniaco-magnésien.....	37
§ II. — Par précipitation de phosphomolybdate d'ammonium.....	39
§ III. — Applications.....	44

CHAPITRE III.

Microdosage de l'Acide glycérophosphorique.

§ I. — Méthode proposée.....	47
§ II. — Loi d'action de la glycérophosphatase.....	50
§ III. — Influence de la viscosité sur la réaction glycérophosphate-glycérophosphatase.....	54

CHAPITRE IV.

Microdosage d'un acide libre dans quelques milieux végétaux complexes.

§ I. — Méthode proposée	56
§ II. — Loi d'action de la myrosine	57

CHAPITRE V.

Microdosage du potassium.....	63
--------------------------------------	-----------

CHAPITRE VI.

Application de la méthode de Pregl à quelques composés pharmaceutiques.....	69
Conclusions générales.....	71
Index bibliographique.....	75

En ma qualité de Censeur de tour
j'ai lu la Thèse ayant pour titre :

*Quelques Applications du Microdosage
de l'Ammoniaque.*

Par M. MAX MOUSSERON.

Je pense que la Faculté peut en per-
mettre l'impression.

Montpellier, le 28 octobre 1927.

LE PROFESSEUR,
A. ASTRUC.

Vu :

Montpellier, le 29 octobre 1927.

LE DOYEN,
G. MASSOL

Vu et permis d'imprimer :

Montpellier, le 3 novembre 1927.

LE RECTEUR,
Jules COULET.

